

Svensk Förening för Patologi – Svensk Förening för Klinisk Cytologi			
Dokumentnamn: Lungtumörer			
Framtaget av: KVA-THORAX	Utgåva: 2.6	Fastställt: 2023-03-01	Sidor: 41

Arbetsgrupp: Hans Brunnström, Aziz Hussein, Göran Elmberger, Katalin Dobra, Levent Akyürek, Martin Mettäväinö, Mátyás Béndek, Miklos Gulyas, Nastaran Monsef, Patrick Micke

I. Innehållsförteckning

I. Innehållsförteckning	1
II. Omfattning	2
III. Klinisk bakgrundsinformation	2
IV. Patologins roll i den diagnostiska processen	3
V. Aktuella provtyper	4
VI. Anvisningar för provtagarens hantering av prover	4
VII. Anamnestisk remissinformation	5
VIII. Hantering av prover på patologlaboratoriet	5
IX. Utskärningsanvisningar	7
X. Analyser	9
Konventionella färgningar	9
Immunhistokemiska färgningar	9
Behandlingsprediktiva analyser	11
Multipla tumörer	13
XI. Rekommenderade klassifikationssystem	13
XII. Information i remissens svarsdel	14
XIII. Svarsmallar	17
Svarsmall biopsi/cytologi	17
Svarsmall resektat	17
Svarsmall prediktiv molekylärpatologisk analys	18
XIV. Administrativt	18
SNOMED-koder	18
Provtyps-beteckningar	18
Förslag på kvalitetsindikatorer	19
Rekommenderade svarstider	19
Möjlig delegation	19
XV. Kvalitetsarbete inom patologin	19
Kvalitet färgningar/analyser	19
Kvalitet diagnostik	20
XVI. Övrigt	20
Klinisk organisation som granskat och godkänt dokumentet	20
Länk till nationellt vårdprogram (NVP)	20
Multidisciplinär konferens (MDK)	20
XVII. Referenser	21
Klassifikationssystem	21
Internationella kvalitetsdokument	21
Epidemiologi	21
Diagnostiska markörer	21

Molekylära analyser och målriktad terapi	24
Immunmodulerande terapi och PD-L1	25
Multipla tumörer	25
Cytologi	26
Neuroendokrina tumörer	27
HPV i lungtumörer	27
Övrigt	28
Appendix 1. Kommentar till diagnostik	29
Appendix 2. Immunhistokemi	34
Appendix 3. Tumörklassifikation enligt WHO 2021	36
Appendix 4. Stadiindelning enligt TNM8	38
Appendix 5. Lymfkörtelstationer enligt IASLC	39
Appendix 6. Isolated tumour cells (ITC) enligt TNM/IASLC	40
Appendix 7. Utredningsalgoritm biopsi/cytologi	41

II. Omfattning

Detta KVASt-dokument omfattar all provtagning (cytologi, biopsi, resektat) för tumörer i lunga och luftvägar, samt till stor del provtagning från suspekt lungcancermetastas utanför lungan. Under flera avsnitt finns dels allmän information och riktlinjer för all provtagning, dels därefter specifikt för cytologi, biopsi respektive resektat. För vidare anvisningar gällande diagnostik av icke-epiteliala tumörer, metastaser från andra organ och pleurala förändringar hänvisas även till respektive KVASt-dokument för dessa tumörformer/områden.

Den femte utgåvan av WHO-klassifikationen av tumörer i thorax från 2021 ligger till grund för klassifikation och kodning etc. Vidare har KVASt-gruppen, i syfte att utnyttja ett redan utfört omfattande kvalitetsarbete inkl. vetenskaplig granskning, valt att titta på hur motsvarande amerikanska (College of American Pathologists; CAP) och engelska (Royal College of Pathologists; RCPATH) grupper utformat sina dokument.

III. Klinisk bakgrundsinformation

Drygt 4000 nya fall av cancer utgående från luftvägar och lunga diagnostiseras per år i Sverige, vilket gör gruppen till den femte vanligaste. Rökning är dominerande etiologi och orsakar 80-90% av lungcancerfallen. Prognosen vid lungcancer är dålig, med en förväntad 5-årsöverlevnad efter diagnos på ca 20%, och lungcancer är den vanligaste orsaken till cancerrelaterad död både i Sverige och i världen. Kirurgiskt behandlade patienter har bättre prognos, men även för patienter med mycket begränsad sjukdom (stadium I) ses en 5-årsöverlevnad på 70-80% efter operation. Endast ca 20-25% av patienter med lungcancer genomgår emellertid operation, där spridd sjukdom är vanligaste skäl till att kirurgi inte är aktuellt. För en betydande del av lungcancerpatienterna baseras den morfologiska diagnostiken därför på biopsi och/eller cytologi.

Utredning vid misstänkt lungcancer innefattar bland annat anamnes, kliniskt status, blodprovsanalys, radiologisk undersökning (i första hand CT), positronemissionstomografi (PET) och lungfunktionsundersökning (i första hand spirometri). Morfologisk diagnos eftersträvas alltid, och kan erhållas genom bronkoskopi, transthorakal punktion, öppen eller videoassisterad (VATS) kirurgisk biopsi eller resektion samt diverse andra

provtagningmöjligheter vid förekomst av metastas i annat organ. Vid bronkoskopi kan utöver vanlig tångbiopsi, cytologisk bronkborste och bronksköljvätska mm även kryobiopsi, biopsi med elektromagnetisk navigation (SuperDimension) eller radiellt ultraljud samt ultraljudsledd finnålspunktion av lymfkörtlar eller tumör (EBUS, eller via esofagus, EUS) utföras. EBUS har, i enlighet med internationella riktlinjer, på en del kliniker i princip helt ersatt mediastinoskopi i den preoperativa utredningen av lymfkörtlar, men hur mycket EBUS används varierar mycket över landet.

I behandlingsarsenalen ingår utöver kirurgi även radioterapi (konventionell, typiskt som tillägg till annan behandling, eller stereotaktisk), kemoterapi, immunmodulerande terapi och medicinsk målriktad terapi. För flera läkemedel föreligger en varierande effekt och/eller biverkningsprofil mellan olika histologiska typer, vilket ställer stort krav på histologisk typning. Målriktad terapi innefattande tyrosinkinashämmare (TKI) vid aktiverande mutationer eller fusioner, samt immunmodulerande läkemedel som PD-1/PD-L1-hämmare, har medfört att prediktiv molekylärpatologisk analys har fått stor betydelse vid de vanligaste typerna av lungcancer. Samtidigt som det är viktigt att säkerställa histologisk typ och ursprung, där immunhistokemiska färgningar ofta är nödvändiga, är det alltså viktigt att spara material för molekylärpatologisk analys.

IV. Patologins roll i den diagnostiska processen

Målet med den morfologiska diagnostiken är att fastställa om neoplastisk sjukdom föreligger och i så fall tumörens histologiska typ och ursprung samt förekomst av behandlingsprediktiva förändringar, i syfte att vägleda behandling och prognosbedömning. För fall aktuella för operation ingår utöver preoperativ provtagning från tumören även undersökning av mediastinala lymfkörtlar. Peroperativt kan det vara aktuellt med fryssnitt från tumören för att bekräfta malignitet eller för undersökning av utbredning eller radikalitet.

Vid utredning av misstänkt lungcancer finns ett stort antal differentialdiagnoser. Att skilja epitelial primär malignitet i lunga från icke-epitelial malignitet, metastas eller reaktiva förändringar (fr.a. inflammatoriska och infektiösa tillstånd) kan vara mycket svårt, ibland omöjligt, på biopsi/cytologi. God anamnestisk information på remissen och multidisciplinärt arbetssätt är viktigt. Tilläggsanalyser har i de flesta fall inget värde för att skilja reaktiva förändringar från högt differentierad cancer vid prover från bronk/lunga (erfarenhetsmässigt kan FISH för ploidiundersökning (UroVysion) eller NGS vara av nytta, men fr.a. utesluter inte negativt fynd malignitet). Förnyad provtagning bör alltid övervägas i oklara fall. Vidare krävs immunhistokemiska analyser av hög kvalitet då stor vikt läggs vid dessa i diagnostiken. Det finns ett stort antal faktorer som påverkar utfallet av immunhistokemiska färgningar och kan leda till falska resultat. Ansvaret för validering av färgningar och andra analyser ligger på den enskilda patologavdelningen.

För skivepitelcancer och neuroendokrina tumörer i lunga är dessutom möjligheten att bedöma ursprung begränsad även vid resektat eftersom morfologi och immunhistokemisk profil ofta inte är vägledande. Att bedöma om en tumör är ny/synkron eller recidiv/intrapulmonell metastas kan också vara mycket svårt; morfologi, immunhistokemi och molekylär analys kan idealt ge vägledning och multidisciplinär bedömning rekommenderas.

I normalfallet diagnostiseras ett prov av en patolog. Behovet av intern och/eller extern konsultation avgörs av ansvarig diagnostiker. Förnyad granskning av relevanta preparat bör

ske inför multidisciplinär konferens (MDK). Eftergranskning kan också begäras av behandlande läkare inför ställningstagandet till slutgiltig behandling om 1) PAD-svaret saknar fullständiga uppgifter som krävs för ställningstagande till behandling, 2) fallet primärt diagnostiserats av en patolog som inte har thoraxpatologisk eller cytologisk inriktning, eller 3) patienten önskar en "second opinion".

V. Aktuella provtyper

De vanligaste provtyperna vid lungtumörer framgår nedan (för provtagning från pleura, se KVASt-dokument Pleura).

Cytologi: Bronkborste, bronksköljvätska, sugkateter, ultraljudsledd finnålspunktion vid skopi (EBUS/EUS), transthorakal finnålspunktion, sputum.

Biopsi: Bronkbiopsi (tång- eller kryobiopsi), transthorakal mellannålsbiopsi.

Resektat: Kilexcision, segmentresektion, lobektomi, bilobektomi, pulmektomi.

VI. Anvisningar för provtagarens hantering av prover

Oavsett typ av prov (biopsi/cytologi/resektat) ska provmaterialet hanteras på så sätt att både immunhistokemisk färgning och molekylärpatologisk analys kan utföras.

Då provmaterialet ofta är begränsat vid utredning av lungcancer rekommenderas ett nära samarbete mellan remitterande kliniker och patologavdelningen för att upparbeta lokalt fungerande rutiner för provtagning/provhantering och för att öka andelen fall med tillräckligt utbyte för diagnostik/klassifikation inkl. erforderliga tilläggsanalyser. Åtgärder som kan underlätta för förbättrad provkvalitet inkluderar systematisk återkoppling till lungläkare eller radiolog som utför provtagning genom att patolog regelmässigt beskriver provets sammansättning, representativitet och kvalitet i PAD-svaret samt att kopia av PAD-svar sänds till radiolog som utför nålbiopsi. Ett alternativ är makrofotografering (biopsier) eller inscanning av prov (biopsier eller cytologi) som provtagare sedan får ta del av. Ytterligare ett sätt är s.k. rapid on-site evaluation (ROSE) där provtagaren själv eller patolog/cytodiagnostiker (på plats eller via länk) i samband med provtagningen bedömer utbytet, alikvoterar provet och gör en preliminärbedömning av representativitet och eventuellt diagnos.

Cytologi: Hantering av cytologiskt material måste till del styras av lokala rutiner upparbetade av provtagare och patologavdelning då analyser (som immunhistokemisk färgning) ibland behöver optimeras efter typ av fixering/preparering och då tekniska möjligheter och vana att arbeta med olika prepareringar kan skilja mellan olika patologavdelningar.

I grunden används direktutstryk och vätskebaserad cytologi vid cytologisk provtagning. Direktutstryk av cytologiskt material på glas lufttorkas före fixering eller spritfixeras direkt, och glaset ska märkas med vald metod (metod styr möjliga val av konventionella färgningar). Vid vätskebaserad cytologi tillsätts cellmaterialet i någon metanol-/etanolinnehållande lösning (CytoLyt, PreservCyt, CytoRich m.fl.). Hanks lösning är en annan vätska som fungerar väl för flödescytometri, vilket rekommenderas vid lymfomfrågeställning. Cytologimaterialet kan

också tillsättas i koksalt (PBS fungerar likaså för flödescytometri), normosmolär BSA eller formalin. Materialets hållbarhet i koksalt är begränsad, och provet bör då så snart som möjligt skickas till patologavdelning för vidare omhändertagande.

Normalt är två bra utstryksglas lämpligt och därefter övrigt material till vätskebaserad cytologi/koksalt/formalin. Vid provtagning är det ofta relativt enkelt med upprepad borstning eller upprepad aspiration vid fin nåls punktion (EBUS mm), och man bör eftersträva rikligt material till vätskebaserad cytologi/koksalt/formalin (idealt minst 4-5 borstningar/aspirationer). Vid mer begränsade provtagningsmöjligheter bör vätskebaserad cytologi/koksalt/formalin oftast prioriteras eftersom de diagnostiska valmöjligheterna är större från dessa prepareringar.

Biopsi: Biopsier bör skickas i ofärgad pH-neutral buffrad 4%-ig formaldehydlösning (motsvarar 10%-ig formalin). För starkt eller för svagt formalin kan påverka resultatet av vissa analyser, vilket färgat formalin, som ibland används för att små preparat ska synas bättre på patologavdelningen, möjligen också kan göra. Vid bronkoskopi bör idealt minst 5 biopsier tas, och vid perkutan provtagning med mellannål idealt minst 3-4 biopsier.

Resektat: Resektat bör skickas färskt till patologavdelningen för möjlighet till tillvaratagande av färskt material för biobanking/forskning. Biobanking uppmuntras om det kan ske utan påverkan av den diagnostiska säkerheten. Tillvaratagande av färskt material för biobanking/forskning bör därför ske på patologavdelningen och inte utföras på resektat med mycket små tumörer eller rutinmässigt på biopsi/cytologi. Om resektat skickas i formalin ska inremitterande tillse att preparatet är välfyllt och formalinmängden tillräcklig för god fixering (se detaljer under avsnitt VIII. Hantering av prover på patologlaboratoriet), men genomskärning av stor tumör för bättre fixering rekommenderas inte vid formalinutfyllnad på kirurgisk avdelning.

VII. Anamnestisk remissinformation

Av remissen ska följande framgå:

- Känd smittfara (HIV, HBV, HCV, misstänkt tuberkulos)
- Om fryssnitt eller snabbsvar önskas och i så fall telefon-/sökarnummer
- Provtagningsdatum och klockslag
- Typ av fixering
- Typ av preparat (inkl. preparatförteckning om flera preparat)
- Klinisk bedömning/diagnos och relevanta tidigare PAD/CD, radiologiska fynd, labfynd, tidigare sjukdomar, statusfynd, fynd i samband med provtagningen, information om rökning etc.
- Frågeställning

Det är av stor vikt att adekvat information om bedömning/fynd och frågeställning (inkl. om klinisk/radiologisk bild talar för primär lungtumör eller metastas) framgår av remissen, då detta kan styra val av tilläggsanalyser och bedömning. Omfattande information bör därför framgå redan vid första remiss oavsett om diskussion vid MDK planeras.

VIII. Hantering av prover på patologlaboratoriet

Utöver att möjliggöra adekvat diagnostik ska rutinerna för hanteringen på patologavdelningen (inkl. efterföljande analyser, diagnostik och utsvarande) medge att tid från ankomst av prov till slutsvar kan medföra rimlig total utredningstid för patienten. Särskilda rutiner för att åstadkomma korta svarstider är upp till patologavdelningen (t.ex. intern prioritering av utredningsprover/snabbsvarsförfarande, direkt uppsnittning av glas för immun-/mucinfärgning och ev. molekylär analys för snabbare handläggning och för att undvika att slösa material vid ny snittning, molekylärpatologisk diagnostik parallellt med diagnostisk immunhistokemisk färgning etc.).

Om materialet vid utredning (cytologi, biopsi) inkommer till patologavdelningen vid samma tidpunkt bör alla prover kan bedömas av samma patolog för val av bästa material för ev. histokemisk/immunhistokemisk färgning och molekylärpatologisk analys. Detta har visats minska andelen fall med diagnosen ospecificerad icke-småcellig cancer (NSCC) och kan underlätta för att undvika onödig parallell färgning av preparat. Förfarandet har också framhållits av WHO-gruppen, men förutsätter att patologen är kompetent inom samtliga dessa områden. Likaså är det lämpligt att den patolog som diagnostiserar provet också ansvarar för att molekylärpatologisk utredning utförs och tolkas diagnostiskt och prediktivt i relation till provets representativitet och övriga histopatologiska/cytologiska och immunhistokemiska fynd.

Cytologi: Cytologiskt material i vätska omhändertas utifrån typ av vätska. Material i koksalt bör omhändertas relativt omgående och kan användas för utstryk, överförs till annan fixeringsvätska och/eller användas för direkt cellblockstillverkning som sedan fixeras. Material i formalin fixeras minst 12 h. Material i metanol-/etanolbaserad vätska (CytoLyt, PreservCyt, CytoRich m.fl.) fixeras minst 15-30 min före vidare automatisk processning (ThinPrep, SurePath) inkl. överföring av (del av) cellmaterial till glas.

Oavsett typ av fixering rekommenderas vid förekomst av malignitet tillverkning av cellblock (eller Cytospin) från resterande material. Vid tillverkning av cellblock kan man med fördel slå ihop material från flera provtagningar (inkl. Hanks lösning) för att maximera cellmängden. Direktutstryk från vätskan är också möjligt för immunfärgning (och går snabbare), men erfarenhetsmässigt räcker materialet till färre analyser med denna taktik. För cellmaterial i formalin och koksalt görs normalt cellblock direkt av hela materialet.

Slutresultaten från cellblockstillverkning är en paraffinbäddad cellpellet som kan användas på motsvarande sätt som kloss med biopsi. Det finns olika cellblocksmaskiner som använder metanol (Cellient) eller formalin (Shandon) som fixativ, men alla kan användas oavsett vilken typ av fixeringsvätska som använts initialt. Alternativt kan man skapa ett cellblock genom centrifugering och adhesion med plasma-thrombin eller HistoGel. Som för biopsi nedan gäller för cellblock att snittning bör ske med tunna snitt (2-3 mikrometer) på en mikrotom där varje snitt kan tillvaratas. Cytospin är ytterligare ett alternativ där cellerna centrifugeras till en pellet utan vidare fixering, paraffinbäddning eller snittning.

Biopsi: Biopsier fixeras idealt i 24 h i formalin. Kort fixeringstid (fr.a. <8 h) påverkar vissa immunhistokemiska färgningar negativt, medan lång fixeringstid (fr.a. >3 dagar) kan påverka vissa molekylära analyser. I syfte att utnyttja det ofta sparsamma materialet på bästa sätt rekommenderas att biopsierna delas upp i två eller flera kassetter/klossar om flera biopsier tagits vid ett provtillfälle för att materialet skall räcka till fler representativa snitt för immunhistokemi resp. molekylärpatologisk analys.

Initial nivåsnittning förbi biopsins maximala dimension bör inte utföras. Istället kan det enskilda laboratoriet välja mellan två strategier för optimalt biopsiutnyttjande, antingen försiktig första snittning ("touch and go") för vidare urval och prioritering, eller tillvaratagande av ofärgade numrerade seriella snitt (typiskt 12-20 stycken) där första och sista färgas med hematoxylin-eosin för representativitetskontroll. I det förstnämnda fallet bör ev. kompletterande analyser sambeställas och prioriteras så att kompletterande snittning kan utföras vid ett tillfälle då separat snittning vid olika tillfällen regelmässigt leder till vävnadsförlust. Oavsett strategi bör snittning ske med tunna snitt (2-3 mikrometer) på en mikrotom där varje snitt kan tillvaratas. Kompletterande nivåsnittning bör utföras vid benigt fynd om försiktig första snittning utförts.

Resektat: Tillvaratagande av färskt material för biobankning/forskning bör, när aktuellt, utföras av patolog väl förtrogen med principer för utskärning och diagnostik och får inte riskera att påverka den diagnostiska säkerheten. Tillvaratagande rekommenderas därför inte vid för liten tumör (i allmänhet om storlek ≤ 1 cm, men får bedömas i det aktuella fallet) eller om tumörlokalisering eller annan omständighet kan medföra diagnostiska problem i senare skede.

Pleuranära tumör ska inte genomskäras från närliggande pleura då det kan försvåra senare utskärning och bedömning av pleurainvasion. Motsvarande ska central tumör nära resektionskanten inte genomskäras från bronksidan då det kan försvåra radikalitetsbedömning. Tumörstorlek bör mätas i samband med genomskärning för att säkerställa storleksmått om adekvat mätning inte skulle vara möjlig vid efterföljande utskärning.

Resektat bör fixeras i ofärgad pH-neutral buffrad 4%-ig formaldehydlösning (motsvarar 10%-ig formalin) helst minst 10-20 gånger preparatets volym. Man kan med fördel använda slang, spruta eller annan konstruktion för formalinfyllnad direkt i bronksystemet. Eventuellt kan man dessutom vid större tumörer spruta med kanyl direkt i tumörvävnaden och i peritumoral vävnad för att ytterligare förbättra fixeringen. Det sistnämnda är i princip alltid nödvändigt för god fixering vid kilexcision eller segmentresektion som inte har större luftväg tillgänglig för formalinfyllnad. Överfyllnad av preparat med formalin kan leda till artefaktmässig emfysembild och att alveolarmakrofager sköljs bort, varför formalinfyllnad bör ske tills en naturlig anatomisk form erhålls (för preparat med malignitet är dock otillräcklig formalinfyllnad oftare problem).

Vid stor tumör (≥ 5 cm, men ibland även av värde vid mindre tumörer) bör tumören genomskäras med ett eller flera snitt för bättre fixering om möjligt utan att inkräkta på radikalitetsbedömningen.

Resektat fixeras som regel i 48 h innan utskärning. Kortare tid är möjligt vid fr.a. små tumörer, medan längre kan vara aktuellt vid stora tumörer eller smittorisk, varvid byte av formalin bör ske. Kortare fixeringstid (< 24 h) påverkar vissa immunhistokemiska färgningar, medan längre fixeringstid (fr.a. > 3 dagar) kan påverka vissa molekylära analyser (alternativt inkluderar exempelvis att bit tas färskt för separat fixering exakt 24 h). Dålig fixering p.g.a. stor solid tumör där formalinet har svårt att tränga in påverkar såväl rutinmorfologi, immunhistokemiska färgningar som molekylära analyser.

IX. Utskärningsanvisningar

Preparatets sammansättning och mått noteras, liksom eventuella intraparenkymatösa suturrader och patologiska fynd såsom pleuraindragning, carcinosknottor och överväxt på pleura parietale eller andra kringliggande strukturer. Kritiska ytor som pleuraindragningar och resektionsränder bör efter avlägsnande av eventuella suturrader färgmarkeras om behov för orientering. Suturrader som påverkar säkerheten i bedömningen av radikalitet bör noteras (fr.a. tumörnära metallclips/staples).

Tumörens lokalisation noteras, liksom tumörstorleken, åtminstone största mått. Perifera tumörer skärs lämpligen vinkelrätt från närmast liggande pleurayta, medan centrala tumörer lämpligen skärs från bronksidan. Avståndet till bronkiell resektionsyta noteras, och vid central tumör även relation till icke pleurabeklädd mjukdelsresektionsyta mot mediastinum. Relation till övriga resektionsytor såsom intraparenkymatösa eller medresecerade intilliggande strukturer som pleura parietalis, delar av bröstkorgsväggen, diafragma eller intilliggande lunglob noteras också.

Efter undersökning av huvudtumören undersöks övrig lungvävnad noggrant. Dels bör man leta efter ytterligare tumörer, dels notera om obstruktiv pneumoni eller atelektas (kan vara svårbedömt) föreligger och omfattningen av dessa. Till sist bör lungvävnaden undersökas avseende eventuell icke-neoplastisk komorbiditet som emfysem, interstitiell lungsjukdom mm.

Tillvaratagande av följande bitar rekommenderas:

- Tvärsnitt från bronkresektionskant
- Tvärsnitt från kärlresektionskant
- Från tumör med största mått ≤ 2 cm bör hela tumören bäddas, annars bäddas åtminstone 1 bit per påbörjad cm i största mått (dvs 4 bitar från tumör 3,1-4,0 cm) men om adenokarcinom in situ eller minimalt invaderande bör hela tumören bäddas även vid mått > 2 men ≤ 3 cm – för användning av storsnitt se nedan
- I bitarna bör även omgivande lungparenkym inkluderas för att kunna detektera vaskulär invasion och spridning via luftrum (STAS)
- Från perifer tumör som återfinns ända fram till pleura (utan lungvävnad mellan tumör och pleura) ska flera tumörbitar tas mot pleura med snitt vinkelrätt mot pleuraytan för färgning med elastica-van Gieson (EVG) för bedömning av ev. pleurainvasion, men vid perifer tumör som inte återfinns ända fram till pleura räcker 1 bit med tumör mot närmsta pleurayta
- Från central tumör ska minst 1 av tumörbitarna tas med längsgående snitt i bronken (om tumör finns nära icke pleurabeklädd yta eller suturad invid bronk ska fler bitar med längsgående snitt tas härifrån, om behov för orientering efter tuschning) för undersökning av bronkrelation och ev. dysplasi
- Vinkelräta snitt mot samtliga kritiska resektionsytor (bör tas om tumör < 10 mm från resektionskanten)
- Bitar från alla separata tumörsuspekta eller oklara förändringar i parenkym eller pleura
- Minst 1 bit perifert om tumör om central tumör vid misstanke om obstruktiv pneumoni
- 1-2 bitar normal lungvävnad per lob
- Samtliga framdissekerade lymfkörtlar på huvudpreparatet (noggrann dissektion längs bronker eller konsekutiva tvärsnitt rekommenderas) samt samtliga separat inskickade lymfkörtlar – om uppenbar metastas bäddas en bit per lymfkörtel, annars delas lymfkörtlarna i bitar och allt bäddas (rutinmässig nivåsnittning eller

immunhistokemisk färgning rekommenderas inte), antalet lymfkörtlar behöver inte räknas

Storsnitt (i första hand supermegakassett) bör användas om tumören är större än ett helt centralt snitt (vid största tumördiameter) från tumören får plats i vanlig kassett eller om det bedöms som nödvändigt för att med säkerhet kunna avgöra tumörstorlek, utbredning (inkl. växt in i annan lob) eller andra fynd som påverkar stadium/handläggning. Storsnitt underlättar även bedömningen av största mått av invasion, vilket används för stadieindelning.

För kilexcision och segmentresektion utan större luftväg gäller samma principer för tumörbitar som vid perifer tumör ovan. I övrigt tas minst 1 bit mot resektionskant (vid behov för orientering tuschning efter borttagande av ev. suturrad), normal lungvävnad om möjligt (om resten av loben opererats ut efteråt är det oftast bättre att ta normal lungvävnad från denna), samt lymfkörtlar enligt ovan (lymfkörtlar brukar dock inte finnas på huvudpreparatet i dessa fall).

X. Analyser

Konventionella färgningar

Konventionella rutinfärgningar är basen vid diagnostik. Hematoxylin-eosin är rutinfärgning vid biopsi/resektat. Tillägg av elastica-van Gieson (EVG) eller motsvarande färgning som visualiserar de elastiska fibrerna i pleura ska användas vid resektat med pleuranära tumör. Mucinfärgning, i första hand perjodsyra-Schiff med diastas (PAS-diasstas) eller alcianblått (AB-PAS), är också aktuellt som tilläggsanalys som markör för adenokarcinom.

För cytologi används som regel May-Grünwald-Giemsa vid lufttorkade direktutstryk. Ett alternativ är snabbfärgning med Diff-Quik (modifierad Giemsa/Romanowski) för bedömning inom ett par minuter, men med något sämre morfologisk kvalitet. Direkt spritfixerade utstryk färgas normalt med Papanicolau eller hematoxylin-eosin. Även specialfärgningar som mucinfärgning mm går att utföra på cytologiskt material. Cellmaterial från vätskebaserad cytologi färgas som spritfixerade glas, snitt från cellblock normalt med hematoxylin-eosin.

Immunhistokemiska färgningar

Immunhistokemisk färgning bör i de flesta fall användas som tillägg för att om möjligt avgöra histologisk typ och ursprung vid malign tumör i lunga. Störst betydelse har immunhistokemi och andra tilläggsanalyser (främst mucinfärgning) för typning av lågt differentierad cancer, ursprungsbedömning av adenokarcinom samt verifiering av neuroendokrina tumörer. För övriga tumörer som mesoteliom, ovanligare primära epitheliala lungtumörer, mesenkymala tumörer, melanom, lymfocytära tumörer samt tumörer av ektopiskt ursprung är immunhistokemisk, flödescytometrisk och/eller molekylärpatologisk undersökning ofta avgörande för klassifikation.

Valet av immunpanel är emellertid komplext där även faktorer som det enskilda laboratoriets tillgång till uppsatta antikroppar och materialtillgång (som ofta är begränsat) starkt influerar sammansättning och dimension av panelen. Vidare är lungan det vanligaste organet för metastaser, och samtliga växtmönster inklusive lepidiskt kan imiteras av metastaser, varför hänsyn bör tas till den morfologiska bilden, patientens tidigare tumörhistoria, epidemiologisk situation (ålder, kön, riskfaktorer) samt till radiologisk och klinisk bild. Ett välfungerande multidisciplinärt samarbete är här av stor vikt för god handläggning.

I Appendix 1 finns kommentarer till diagnostik av vanliga tumörer i lunga, och i Appendix 2 återfinns immunhistokemiska färgningsmönster vid olika typer av lungcancer och några vanliga typer av metastaser.

Som markör för skivepitelcancer rekommenderas p40. Alternativ är CK5 eller CK5/6 (men dessa har lite lägre specificitet enligt några studier), vilket också kan användas som komplement vid otydlig immunprofil efter initial panel vid NSCC utan tydlig morfologi (p63 bör inte användas p.g.a. låg specificitet). Vid tydlig bild som keratiniserande skivepitelcancer kan man överväga att inte utföra immunhistokemisk färgning. Vid skivepitelcancer finns i allmänhet mindre möjlighet att påvisa ursprung, möjligen med undantag för EBV- och HPV-associerade tumörer som oftast bör uppfattas som metastatiska i lungan och skivepitelcancer från thymus som brukar uttrycka CD5 och CD117.

Som markör för adenokarcinom i lunga rekommenderas TTF-1 klon 8G7G3/1 (klon SPT24 har högre sensitivitet men har lägre specificitet vilket medför svårighet att applicera diagnostiska kriterier i WHO-klassifikationen och har även visats ge diagnostiska problem i klinisk praktik, se t.ex. under Övrigt i referenslistan). Alternativ är napsin A, vilket också kan användas som komplement vid otydlig immunprofil efter initial panel vid NSCC utan tydlig morfologi. Även positiv mucinfärgning påvisar adenokarcinom, och kan vara aktuellt som tilläggsanalys.

Som neuroendokrina markörer rekommenderas CD56, synaptofysin, chromogranin A och INSM1. Enligt WHO-klassifikationen rekommenderas tillägg av neuroendokrina markörer enbart vid morfologisk neuroendokrin bild (p.g.a. låg specificitet) och att en positiv markör räcker för diagnos neuroendokrin tumör i dessa fall. Eftersom samtliga markörer dock sällan är positiva vid högmaligna neuroendokrina tumörer (d.v.s. småcellig och storcellig neuroendokrin cancer) rekommenderas färgning med mer än en markör vid misstanke om dessa diagnoser. Enligt klinisk erfarenhet och svenska studier kan emellertid neuroendokrin morfologi vara svårt att detektera på små material. Ki67 ska utföras vid karcinoid på utredningsprov, och är ofta av värde om oklar typ av neuroendokrin tumör (Ki67 definierar inte typisk/atypisk lungkarcinoid, men en diskussion föregår om Ki67 >5% kan vara användbart för att skilja ut atypiska karcinoider) men skiljer oftast tydligt mellan karcinoid och höggradig neuroendokrin tumör. Vid neuroendokrina tumörer är möjligheten att bedöma ursprung begränsad då markörer som TTF-1 och CDX2 har relativt låg sensitivitet och specificitet.

För tumörer med oklar histologi som är negativa för adenokarcinom- och skivepitelmarkörer bör immunfärgning utföras för att påvisa epitelialt ursprung (t.ex. CKAE1/3, CK7, EpCAM, men markörerna fr.a. CKAE1/3 kan förekomma i icke-epiteliala tumörer). Även vidare diagnostisk immunhistokemisk färgning bör vara aktuellt om materialet tillåter för att om möjligt nå säkrare diagnos avseende typ och ursprung. Omfattande immunpaneler bör i normalfallet dock inte utföras före vävnad har tagits för prediktiv molekylärpatologisk analys. I normalfallet bör också immunfärgning och molekylär analys beställas samtidigt för att spara tid genom parallell testning vid icke-småcellig cancer där det inte finns särskild misstanke om att det rör sig om metastas till lungan (se även nedan). I WHO-klassifikation har nya entiteter som NUT-karcinom och thorakal SMARCA4-deficient odifferentierad tumör tillkommit, och är exempel på diagnoser som kan övervägas vid oklar bild. Här finns bra immunfärgningar för screening och molekylära tekniker för verifikation av diagnoserna.

Behandlingsprediktiva analyser

Indikationerna för målriktad terapi och immunmodulerande terapi har successivt utökats, vilket påverkar behandlingsprediktiv testning. Generellt rekommenderas prediktiv testning direkt vid diagnos (reflextestning vid patologavdelningen), där nationell multidisciplinär konsensus föreligger att alla fall av icke-småcellig lungcancer testas (inkl. stadium IA även om indikation idag föreligger först om recidiv uppstår). Bifynd av in situ-cancer eller minimalt invaderande adenokarcinom (MIA) behöver inte testas rutinmässigt vid resektion av annan tumör. Inklusionskriterier för testning på biopsi och cytologi bör generellt vara generösa p.g.a. möjligheten av samplingartefakt vid heterogena tumörer och diagnostisk osäkerhet. Som regel testas inte neuroendokrina tumörer eller cancer av spottkörteltyp vid säker diagnos, men p.g.a. diagnostisk osäkerhet bör testning t.ex. vid bild av storcellig neuroendokrin cancer på biopsi/cytologi övervägas. Förfrågan från kliniker och lokal rutin styr dock, och för patienter som aldrig rökt och/eller är yngre önskar kliniker oftast molekylärpatologisk analys (inkl. NUT-analys) oavsett typ av lungcancer. Likaså får lokal rutin styra vad som är lämplig åtgärd om en eller flera analyser inte är möjliga att utföra. T.ex. kan komplettering med riktade fusionsanalyser bedömas vara av mindre värde för skivepitelcancer om multiplex fusionstestning inte fungerat. För en patient som bedöms som lämplig för målriktad terapi bör oftast nytt prov övervägas om första material är otillräckligt.

Utifrån dagens behandlingsstrategi (i synnerhet då ett flertal aktuella läkemedel godkänts i första linjen) bör testningen omfatta åtminstone mutationsanalys för EGFR, BRAF, KRAS, ERBB2, METex14, fusionsanalys för ALK, ROS1, RET, NTRK, samt proteinuttryck för PD-L1. Utvecklingen är snabb inom precisionsmedicin, och antalet intressanta markörer ökar hela tiden. T.ex. kan fusioner för NRG1 och NUT behöva analyseras för vissa patienter, och även STK11- och FGFR1-mutationer samt mutationsbörda (tumor mutational burden, TMB) diskuteras. Vidare kan, utöver den behandlingsgrundande EGFR T790M-mutationen, även mutationer i ALK-genen och amplifiering av MET vara intressanta vid behandlingssvikt/resistens.

Härav rekommenderas multiplexa analyser såsom NGS, vilket medför minskad åtgång av prov samtidigt som alla typer av behandlingsbara genetiska aberrationer (mutationer, fusioner och amplifieringar) analyseras samtidigt. För avdelningar med omfattande lungcancerdiagnostik är det dock en fördel att ha flera metoder uppsatta för att kunna välja den metod som bäst passar det enskilda provet och för att ha alternativ som reserv. Immunfärgning, FISH och riktad PCR är också snabbare än mer komplexa analyser som NGS, och en del laboratorier har idag valt en första snabbdiagnostik följt av mer uttömmande och högsensitiv NGS-analys.

Det är extremt ovanligt att lungtumörer har mer än en drivande mutation i det signalsystem (den s.k. MAP-kinasvägen) som idag hämmas med flertalet målinriktade läkemedel. Enstaka fall av samtidig KRAS-mutation och annan behandlingsprediktiv förändring förekommer, fr.a. vid progress efter målriktad terapi (resistensfrågeställning) men har även rapporterats för icke-rökare.

Reflextestning bör i första hand ske parallellt med diagnostiska tilläggsanalyser för rimliga svarstider och minimal vävnadsåtgång. Vidare rekommenderas samordning av prover om flera föreligger från provtagning för urval av bästa material för prediktiva och diagnostiska analyser. Testning bör ske dels vid initial diagnos men även upprepas vid progress, recidiv

eller metastas om patienten erhållit systemisk behandling och då särskilt om målriktad terapi givits. Behandlingstryck medför ofta klonal evolution och selektion inom tumören med uppkomst av resistens mot den primära terapin. Fynd av resistensfaktorer (v.b. med utvidgad resistenspanel) kan göra att ny målstyrd behandling kan väljas.

Makrodissektion bör utföras vid behov för att uppnå adekvat tumörcellshalt i relation till testmetodens känslighetsnivå. Från paraffinbäddad vävnad får antalet vävnadsnitt anpassas så att erforderlig tumörmängd till analys uppnås. Vid biopsi och resektat är ett alternativ att karva respektive stansa ut vävnadsbitar ur paraffinblocket. Molekylärpatologisk analys (även FISH och immunhistokemisk färgning) går att utföra på cellutstryk från vätskebaserad cytologi eller via cellblock/Cytospin. Mutationsanalys går även att utföra på redan färgade cytologiska utstryk på glas (cellerna skrapas av och lyseras; eftersom diagnostiskt material då försvinner rekommenderas scanning av glas före; på vissa laboratorier finns erfarenhet att Giemsa-färgade glas är att föredra p.g.a. bättre bevarat DNA än Papanicolau-färgade glas). Fördelen med cellblock och lysering av befintliga glas är att bedömning av tumörcellshalt och mängd är enklare.

Det finns olika metoder för att påvisa mutationer, där massiv parallellsekvensering/NGS (next generation sequencing) och PCR-baserade metoder idag dominerar. Fusioner kan detekteras med t.ex. FISH, immunhistokemisk färgning eller RNA-baserade multiplexa eller riktade (PCR) analyser. För ALK kan immunhistokemi användas för detektion (med kompletterande FISH eller annan metod endast vid ej konklusivt resultat) om en sensitiv klon som D5F3 och 5A4 användas, där den förstnämnda finns som CE-IVD-märkt kit och därför rekommenderas. För ROS1 (klon SP384 eller D4D6, där den förstnämnda finns som CE-IVD-märkt kit och därför rekommenderas) och NTRK kan immunhistokemi användas för screening men med obligat bekräftande FISH eller NGS/PCR-baserad teknik vid positivt resultat.

FISH är en ganska arbetskrävande metod som också kan vara tekniskt känslig och tar mer tid att utvärdera än t.ex. immunfärgning. En fördel är dock att det typiskt krävs betydligt mindre tumörmängd än NGS. Enligt erfarenhet kan de tekniska artefakter som ofta uppstår vid FISH av material med lång formalinfixering motverkas av proteasbehandling. Även kort formalinfixering påverkar kvaliteten, enligt erfarenhet fr.a. vid expressdehydrering. Standardiserad fixeringstid är sålunda viktigt för att få goda FISH-resultat utan behov av anpassning av proteolystider för det enskilda provet. Även sekvensering kan vara känslig för (lång) överfixering, men här kan enzymatisk reversering av deaminering också nyttjas.

Cellfritt plasma-DNA (cfDNA; "liquid biopsies") är en snabb och provtagningsmässigt enkel metod som kan användas för påvisade av behandlingsprediktiva förändringar och resistensmutationer. Känsligheten är dock inte optimal och vid negativt test rekommenderas kompletterande vävnads- eller cellprov.

Angående PD-L1 så finns det olika tester som använts i studier för de olika aktuella läkemedlen, med olika antikroppskloner som är testade på delvis olika plattformar och med olika cutoff-nivåer för positivt test. Minst 100 utvärderbara viabla tumörceller är lämpligt oavsett test. Klon 28-8, 22C3 och SP263 finns som CE-IVD-märkta kit och är enligt jämförande studier så pass lika att vilken som bör kunna användas som grund för de tre läkemedlen som kopplade till testerna (nivolumab, pembrolizumab och durvalumab). Detta medger också att det går att välja antikropp som är utprovad på den plattform (i enlighet med CE-IVD-märkning) som finns att tillgå på den enskilda patologavdelningen. Klon SP142 (kopplat till atezolizumab) skiljer sig däremot från övriga nämnda och bör inte ersätta eller

ersättas av någon annan klon. Detta innebär att om testning önskas specifikt inför atezolizumab så bör SP142 användas. Vid 22C3/28-8/SP263 utvärderas andel tumörceller med komplett eller partiell linjär membranfärgning (cytoplasmatisk färgning ignoreras och makrofager som typiskt är positiva ska beaktas). Vid SP142 gäller både membranös och cytoplasmatisk granulär infärgning och här ingår även utvärdering av tumörassocierade immunceller (vilket inte går att utvärdera vid cytologiskt prov).

Det finns vetenskapligt underlag och klinisk erfarenhet av att påvisa molekyärgenetiska förändringar på både cytologiskt och histologiskt material. Underlaget fortfarande är något begränsat för immunhistokemi för PD-L1 på cytologi, där studier har visat varierande samstämmighet mellan cytologi och paraded biopsi, och om biopsi finns bör detta användas för PD-L1 i första hand. Lokal validering av prediktiva analyser – såväl immunfärgning som FISH och sekvensering – rekommenderas för cytologi då processning av materialet kan skilja sig åt mellan avdelningar och kan påverka kvaliteten. Se även avsnitt XV. Kvalitetsarbete inom patologin samt referenslistan för litteraturhänvisning.

Multipla tumörer

För en patient med mer än en tumör kan det spela stor roll för handläggningen om det rör sig om separata synkrona primärtumörer eller tumör med intrapulmonell metastas. Likaså vid tidigare lungcancer blir handläggningen ofta olika vid recidiv respektive ny metakron tumör. I samband med arbetet kring TNM8 har det kommit internationella rekommendationer om bedömning av multipla tumörer, men det behövs också mer data inom området.

Tumörer av olika histologisk typ betraktas normalt som synkrona/metakrona (men t.ex. kan transformation från icke-småcellig till småcellig cancer ses efter systemisk behandling). För synkrona/metakrona tumörer talar också mycket starkt skivepitelcancer med in situ-växt i båda samt adenokarcinom som är endast in situ eller minimalt invaderande. Avsaknad av lymfkörtel- och distansmetastaser samt olika uttryck av biomarkörer talar i viss mån för synkrona/metakrona tumörer, liksom även olika drivande molekylära aberrationer (EGFR, BRAF, ALK, ROS1, RET, NTRK medan KRAS är mer osäker).

För intrapulmonell metastas talar mutation med exakt samma breakpoint (möjligen behövs comparative genomic hybridization (CGH) för detta). För metastas talar i viss mån också förekomst av lymfkörtel- och distansmetastaser (i dessa fall spelar det dessutom sällan roll om två synkrona/metakrona varav en metastaserat eller allt samma tumör), samma uttryck av biomarkörer samt samma cellmorfologi/atypi och växtmönster (baserat på histologisk subtypning med bedömning av samtliga förekommande växtmönster).

Synkrona/metakrona tumörer stadieindelas separat, och högsta T-stadium ska framgå tydligt. Det ligger således ett stort ansvar på diagnostiserande patolog att noga undersöka morfologi och utföra erforderliga tilläggsanalyser vid denna frågeställning (molekylära testning av båda tumörer bör ofta vara aktuellt i fall där det inte är uppenbart metastas/recidiv). Det är dock långt ifrån alltid möjligt att på endast patologisk bas avgöra om synkron/metakron tumör eller metastas/recidiv, och generellt rekommenderas multidisciplinär bedömning av dessa fall.

XI. Rekommenderade klassifikationssystem

För histologisk indelning av lungtumörer ska senaste WHO-klassifikation användas, idag klassifikationen från 2021. En relevant publikation från IASLC rörande diagnostiska

immunfärgningar vid lungcancer publicerades 2019 (Yatabe förstanamn). För stadieindelning ska TNM8 användas. I Appendix 3 och 4 finns sammanfattning av klassifikation/nomenklatur respektive stadieindelning.

XII. Information i remissens svarsdel

Förslag på svarsmallar för biopsi/cytologi, resektat respektive behandlingsprediktiv molekyllär analys återfinns i avsnitt XIII. Svarsmallar. Svarsmallarna får anpassas till lokala förhållanden och bör betraktas som minsta nödvändiga data att rapportera (i mallarna finns även rekommenderade men ej obligatoriska rubriker). Kommentarer till rubrikerna i svarsmallarna återfinns nedan.

Biopsi/cytologi:

Preparatbeskrivning – anges i enlighet med remiss (t.ex. ”bronkborste vänster ovanlob”).

Representativt material för lokalen – gäller i första hand för cytologi, men kan också anges för biopsi. För representativ bronkborste och bronksköljvätska krävs förekomst av respiratoriskt epitel, för sputum förekomst av alveolarmakrofager. För representativ ultraljudsledd punktion av lymfkörtlar (EBUS, EUS) har olika förslag presenterats, där tills vidare något av följande krävs: ett högförstorings synfält (x40 objektiv) med minst 40 lymfocyter, >5 lågförstorings synfält (x10 objektiv) med minst 100 lymfocyter i vardera, kluster av pigmenterade histiocyter/makrofager/germinalcenterfragment eller förekomst av granulom. Föreslagna kriterier är framtagna för utstryksglas, men de två sistnämnda går att applicera även på vätskebaserad cytologi utan ändring, medan antal lymfocyter per synfält sannolikt inte går att översätta rakt av (jämförande data och riktlinjer saknas, men rimligen kan även vätskebaserad cytologi vara grund för representativitetsbedömning på basen av lymfocytantal). För alla provtyper motiverar förekomst av tumör representativet (men med beaktande att provtagning kan vara från primärtumören om åtkomlig). För pleuraexsudat hänvisas till KVASt-dokument Pleura.

Fynd – vid förekomst av tumör ska histologisk typ anges enligt Appendix 3. Att ange subtyp för adenokarcinom är inte nödvändigt (korrelation mellan predominerande växtmönster och prognos finns visat på resektat endast). Resultat av diagnostiska färgningar och relevanta differentialdiagnoser bör anges.

Molekyllär analys utförd – om molekyllärpatologisk analys är utförd på tidigare preparat, om analys beställs på aktuellt preparat eller om det aktuella preparatet är olämpligt för molekyllärpatologisk analys bör anges. En samlad bedömning av samtliga tillgängliga prov på patienten kan med fördel göras och anges under denna rubrik.

Resektat:

Preparatbeskrivning – anges i enlighet med remiss (t.ex. ”vänster ovanlob”). Uppmått storlek kan med fördel anges. Särskilda makroskopiska fynd av betydelse, såsom suturrader eller märkningar, makroskopisk pleuraindragning, medföljande revben etc. rapporteras här.

Tumörlokalisering och utbredning – perifer/central/annan lokalisering anges. Utbredning avser överväxt på revben, mediastinum etc. samt förekomst av metastas till samma eller annan lob.

Tumörstorlek (invasiv del specificerat) – åtminstone största mått för invasiv del ska anges. Största mått för invasiv plus lepidisk del bör dock anges om lepidisk växt finns för att underlätta jämförelse med radiologisk bild. Tumörstorlek avser enligt TNM invasiv del (perifer lepidisk komponent och spridning via luftrum/STAS ingår alltså inte i måttet), vilket ofta mäts enklast mikroskopiskt, men vid tumör utan lepidisk växt motsvarar mikroskopiskt mått som regel det makroskopiska. Notera att för invasivt mucinöst adenokarcinom gäller total storlek (inkl. lepidisk växt men exkl. spridning via luftrum/STAS). Vid diskrepans mellan makro- och mikroskopisk bedömning eller om det är svårt att uppskatta tumörstorleken efter makro- och mikroskopisk bedömning (t.ex. multipla invasiva foci samt lepidisk växt) bör ett mått för invasiv tumörstorlek anges efter bästa uppskattning och jämförelse med radiologisk bild göras.

Histologisk typ – vid förekomst av tumör ska histologisk typ anges enligt Appendix 3. Vid neoadjuvant behandling, fr.a. för fall med mycket lite kvarvarande cancer, får hänsyn tas till att det kan vara svårt att ange typ lika exakt som annars eller jämfört med preoperativ utredning.

Histologisk subtyp – subtyp för neuroendokrina tumörer ska alltid anges, i övrigt bör subtyp anges enligt Appendix 3. Notera att för icke-mucinösa adenokarcinom som inte är minimalt invaderande avgör predominerande växtmönster subtyp, men övriga förekommande växtmönster bör också anges.

Histologisk grad – grad bör anges för adenokarcinom, där minimalt invaderande och lepidiskt adenokarcinom med <20% höggradigt växtmönster räknas som låg grad, acinärt och papillärt med <20% höggradigt växtmönster som medelhög grad, och adenokarcinom med $\geq 20\%$ höggradigt växtmönster (mikropapillärt, solitt, kribiformt eller komplext) som hög grad. Graderingssystemet gäller inte invasivt mucinöst adenokarcinom (tidigare har detta föreslagits vara höggradigt). Något relevant graderingssystem för skivepitelcancer finns idag inte. Småcellig cancer, storcellig neuroendokrin cancer och storcellig cancer graderas inte heller.

Invasion av visceral pleura – ingen eller förekomst av tumör genomväxt av visceral pleuras elastica interna (PL1) ska anges, liksom tumörinvasion i parietal pleura (PL3) i förekommande fall. Tumörväxt på själva pleuraytan men utan invasion i parietal pleura (PL2) är prognostiskt ogynnsamt och kan därför med fördel rapporteras även om stadiet inte påverkas av detta.

Radikalitet/marginaler – avstånd till bronkresektionskant anges, liksom andra relevanta marginaler i förekommande fall. Ingen eller förekomst av tumörväxt i bronkresektionskanten ska anges. Föreslagen terminologi kan med fördel användas: R0, fri marginal; R1, mikroskopiskt ej fri marginal (oavsett lokal, t.ex. periglandulär växt ut i kanten); R2, makroskopiskt ej fri marginal. R_{UN} har föreslagits beteckna osäker marginal och även inkludera fall där systematisk lymfkörtelutrymning inte utförts samt fall där ”högsta nivå” av lymfkörtlar uppvisar metastas.

Behandlingseffekt (vid neoadjuvant behandling) – vid neoadjuvant behandling anges lämpligen om ingen viabel tumörvävnad ses eller om <10% eller $\geq 10\%$ av mikroskopiskt undersökt yta utgörs av viabel tumör (yta av nekros och fibros efter behandling räknas som icke-viabel tumör).

(Misstanke om) tumörassocierad atelektas eller obstruktiv pneumonit – misstanke om något av dessa två tillstånd ska rapporteras eftersom det kan påverka stadiet vid små tumörer, men fr.a. atelektas är svårbedömt histopatologiskt och korrelation till radiologisk bild bör göras.

Vaskulär invasion (LVI, BVI) – inväxt i lymf- (LVI) och blodkärl (BVI) är prognostiskt ogynnsamt och kan därför med fördel rapporteras även om stadiet inte påverkas av detta (utifrån sistnämnda förhållande rekommenderas inte rutinmässig färgning avseende kärl).

Spridning via luftrum (STAS) – spridning via luftrum (spreading through air spaces) innebär mikropapillära kluster, solida nästen eller enskilda tumörceller etc. som ligger fritt i alveolarrummen nära eller längre ifrån tumören (dvs allt utanför tumörfronten). Detta är prognostiskt ogynnsamt och kan därför med fördel rapporteras även om stadiet inte påverkas av detta.

Undersökta lymfkörtelstationer – samtliga undersökta lymfkörtelstationer anges enligt gängse positionsnumrering som ska framgå av remissen. Lymfkörtlar framdissekerade från lungresektatet (typiskt position 12-14, men beror på typ av operation och teknik) anges lämpligen som 'lymfkörtlar från huvudpreparatet' utan vidare numrering. Antal lymfkörtlar från varje position behöver inte anges (separat inskickade lymfkörtlar kommer ofta i bitar, vilket omöjliggör räkning).

Förekomst av lymfkörtelmetastaser (specificera position) – i vilka lymfkörtelpositioner metastas återfinns ska rapporteras. Lymfkörtlar framdissekerade från lungresektatet anges enligt ovan. Notera att direktöverväxt på lymfkörtel räknas som metastas, liksom tumörväxt i vad som bedöms vara undergången/tumöromvandlad lymfkörtel (metastas till själva lungvävnaden påverkar T- eller M-stadium i stället). Notera att isolated tumour cells (ITC; ≤ 0.2 mm) ska rapporteras men inte påverkar stadiet, se Appendix 6. Notera att spottkörtlar och mesotelceller är exempel på benigna strukturer i thorakala lymfkörtlar som inte får misstas för tumör.

Stadium (pTNM) – stadium anges i enlighet med TNM8 som finns sammanfattad i Appendix 4.

Molekylär analys utförd – om molekylärpatologisk analys är utförd på tidigare preparat, om analys beställs på aktuellt preparat eller om det aktuella preparatet är olämpligt för molekylärpatologisk analys kan med fördel anges.

Patologiska fynd i övrig lungvävnad – metaplasi och/eller dysplasi i bronker, emfysem, fibros, inflammation, organiserande pneumoni, granulomatos etc. med beskrivning av omfattning/utbredning kan med fördel anges.

Övrigt – övriga noteringar inkluderar t.ex. fynd i extra preparat (biopsier från t.ex. pleura eller mediastinum; obligatorisk rapportering), dålig fixering av preparatet, förekomst av suturrader som påverkat utskärning/bedömning, perineural tumörväxt etc.

Prediktiv molekylärpatologisk analys:

Provnummer – Lab-ID/PAD-nummer inkl. klossnummer för analyserat material anges.

Provtyp och fixeringsmetod – biopsi/cytologi/resektat respektive färsk/fryst/formalinfixerad paraffinbäddad vävnad eller motsvarande anges (notera särskilt typ av urkalkningsmetod om detta använts). Tidigare ställd diagnos inkl. om metastas/primärtumör/oklart kan också anges.

Re-test (ja/nej) – re-test kan anges och innebär att samma analys finns tidigare utförd (som t.ex. vid nytt test för att undersöka resistensmekanism vid känd EGFR-mutation).

Ev. tumörcellsseparation – manuell makrodissektion etc. anges.

Tumörcellshalt (%) – bedömd tumörcellshalt anges i procent.

Testmetod – testmetod inkl. DNA/RNA-extraktionsmetod samt testade genetiska förändringar eller motsvarande anges. För PD-L1 anges antikropp (kit) och plattform.

Testresultat – genetiska förändringar anges enligt www.hgvs.org (t.ex. "c.35G>A, p.Gly12Ala"). För PD-L1 22C3/28-8/SP263 anges infärgade tumörceller med skalan <1%, 1-49%, 50%+. För PD-L1 SP142 anges infärgade tumörceller med samma skala samt tumörassocierade immunceller med skalan <1%, 1-9%, 10%+. Mer detaljerade skalor kan användas men är inte obligatoriskt.

Kommentar – avser ev. tolkningsproblem eller andra kommentarer av värde.

Värdering – fyndens betydelse i förhållande till klinisk frågeställning anges (t.ex. "analysresultaten talar för/emot behandlingssvar vid terapi med anti-EGFR-antikroppar"). Värdering anges inte för PD-L1.

XIII. Svarsmallar

Svarsmall biopsi/cytologi

Preparatbeskrivning:

Representativt material för lokalen:

Fynd:

Molekylär analys utförd:

Svarsmall resektat

Preparatbeskrivning:

Tumörlokalisering och utbredning:

Tumörstorlek (invasiv del specificerat):

Histologisk typ:

*Histologisk subtyp:

*Histologisk grad:

Invasion (genomväxt) av visceral pleura:

Radikalitet/marginaler:

*Behandlingseffekt (vid neoadjuvant behandling):

(Misstanke om) tumörassocierad atelektas eller obstruktiv pneumoni:

*Vaskulär invasion (LVI, BVI):

*Spridning via luftrum (STAS):

Undersökta lymfkörtelstationer:

Förekomst av lymfkörtelmetastaser (specificera position):

Stadium (pTNM):

Molekylär analys utförd:

*Patologiska fynd i övrig lungvävnad:

*Övrigt:

(* = ej obligatoriskt)

Svarsmall prediktiv molekylärpatologisk analys

Provnummer:

Provtyp och fixeringsmetod:

*Re-test (ja/nej):

**Ev. tumörcellsseparation:

**Tumörcellshalt (%):

Testmetod:

Testresultat:

Kommentar:

*Värdering:

(* = ej obligatoriskt; ** = ej obligatoriskt vid morfologiska tester som immunfärgning och FISH)

XIV. Administrativt

SNOMED-koder

Följande T-koder är i första hand aktuella:

T26 bronk

T28 lunga

T083 thorakal lymfkörtel

M-koder som i första hand är aktuella återfinns i Appendix 3 (för fullständig förteckning hänvisas till WHO-klassifikationen).

Provtypsbeteckningar

Provtypsbeteckningar skiljer mellan olika patologavdelningar och även om enhetlighet vore optimalt så spelar den exakta beteckningen inte någon vidare roll. Det är vilka prover som beteckningarna omfattar som är det viktiga för att jämförelse mellan patologavdelningar (inkl. kvalitetsindikatorer) ska kunna ske. En ännu mer detaljerad uppdelning bör följaktligen inte medföra några problem medan det motsatta kan göra det. För att kunna ge exempel finns dock här förslag på provtypsbeteckningar som i första hand bör vara aktuella inom området:

BOR bronkborste

BRO bronksköljvätska

EBUS finnålsaspirat vid EBUS/EUS

FNA finnålsaspirat

SPU sputum

P bronkbiopsi, transthorakal mellannålsbiopsi, lymfkörtelbiopsi vid mediastinoskopi

X excision av lymfkörtlar vid operation

R kilexcision, segmentresektion, lobektomi, bilobektomi

E pulmektomi

Exempel bronkborste med småcellig cancer:
BOR, T26, M80413

Exempel transthorakal mellannålsbiopsi med adenokarcinom:
P, T28, M81403

Exempel lobektomi samt lymfkörtelutrymning med skivepitelcancer med lymfkörtelmetastas:
R, T28, M80703 plus X, T083, M80706

Förslag på kvalitetsindikatorer

Se separat tilläggsdokument Kvalitetsindikatorer och svarstider thorax.

Rekommenderade svarstider

Se separat tilläggsdokument Kvalitetsindikatorer och svarstider thorax.

Möjlig delegation

Förgranskning och besvarande av benigna cytologiska prover från lunga kan delegeras till cytodiagnostiker. EBUS-prover samt maligna och oklara fynd bör dock även granskas av thoraxcytologiskt kompetent patolog. Utskärning av thorakala lymfkörtlar kan delegeras till BMA. Granskning av prediktiva molekylärpatologiska analyser (immunhistokemisk färgning, FISH, mutationsanalys) kan utföras av annan yrkeskategori, men resultat bör bekräftas av molekylärt kompetent patolog.

XV. Kvalitetsarbete inom patologi

Kvalitet färgningar/analyser

Ansvar för validering av färgningar och andra analyser ligger på den enskilda patologavdelningen, och ett systematiskt internt kvalitetsarbete är en förutsättning för högkvalitativ diagnostik. Vidare bör samtliga patologavdelningar delta i program för extern kvalitetskontroll av analyser (t.ex. NordiQC). Utifrån antalet möjliga metodologiska variabler vid immunhistokemiska färgningar och andra analyser är lokal validering av varje analys en förutsättning för kvalitetskontroll.

Kontrollvävnad för immunhistokemiska färgningar bör användas på varje glas, och bör idealt utgöras av relevant normalvävnad (undantaget färgningar där positiv normalvävnad inte finns) med negativ, låg- och högexpressor som är hanterat och preparerat på samma sätt som provmaterialet.

Protokoll för immunhistokemiska färgningar är normalt utprovade på formalinfixerat histologiskt preparat, och för cytologi ska immunfärgningsprotokollen vid behov optimeras för denna typ av material. Utöver att vätskebaserad cytologi tillåter ytterligare preparation från kvarvarande cellmaterial i vätskan för immunhistokemisk färgning, FISH eller molekylärpatologisk analys (via cellblock/Cytospin eller direktutstryk resp. lysat) har andra kvalitativa fördelar lyfts fram, såsom att erythrocyter kan tvättas bort och att morfologin kan bli tydligare. Om första medlet cellerna fixeras i är metanol/etanol-baserat (vilket gäller en del vätskebaserad cytologi) kan vissa immunhistokemiska färgningar påverkas kvalitetsmässigt (t.ex. S100 och TTF-1, risk falskt negativ i vissa studier, men stora studier saknas).

Cytologiskt material kan fixeras i formalin som första medium, men en potentiell nackdel är att kvaliteten vid mutationsanalyser kan påverkas (formalininducerad DNA-fragmentering och skador riskerar att påverka sparsamt cytologiskt material mer än biopsi/resektat) och att extra "tvättning" av materialet kan behövas. Detta gäller oavsett var i processen formalin används.

För målriktad och (viss) immunmodulerande terapi krävs enligt riktlinjer validerade och robusta tester utförda vid avdelning/laboratorium med erforderlig kunskap om dessa analyser. Vid behandlingsprediktiva analyser uppfattas generellt valideringskraven som extra höga och en ackrediterad analys bör starkt eftersträvas. Många tillverkare tillhandahåller idag tester med hög valideringsgrad (CE-IVD-märkta kit etc.) och vid nyttjande av dylika tester på det rekommenderade sättet blir ansvaret för den lokala valideringen klart mindre.

Molekylärpatologiska analyser kan fungera utmärkt på cytologiskt material, men lokal validering bör utföras (validering/klinisk erfarenhet har lokalt – på en avdelning – t.ex. visat fler falskt negativa fall vid immunhistokemisk färgning för ALK för cytologi än biopsi, medan erfarenhet också visat mer lättolkad FISH på osnittat cytologiskt material).

Kvalitet diagnostik

Målsättningen är att thoraxinriktade patologer ska vara kompetenta inom cytologi och molekylärpatologi för att kunna handlägga samtliga prover från en patient i samtliga steg i den diagnostiska processen. Thoraxinriktade patologer bör regelbundet delta i kurser och konferenser inom thoraxpatologi eller angränsande områden.

Samtliga patologavdelningar ska delta i Equalis-utskick rörande thoraxpatologi, och alla patologer som självständigt besvarar prover från thorax bör delta i Equalis-utskick gällande thorax. Thorax-KVAST-gruppen ansvarar för framtagande av fall till Equalis-utskick.

Patologer som självständigt besvarar prover från thorax bör också ta del av relevanta anmälningsärenden från hela landet, samt delta i lokal intern kvalitetskalibrering (t.ex. regelbundet återkommande individuell eller gemensam granskning av utvalda fall och/eller intern uppdatering av nyheter inom området).

Vidare bör en nationell digital bilddatabas upprättas för samling av typfall och ovanliga fall inom thorax.

XVI. Övrigt

Klinisk organisation som granskat och godkänt dokumentet

Svenska lungcancerstudiegruppen (SLUSG)

Länk till nationellt vårdprogram (NVP)

<https://www.cancercentrum.se/samverkan/cancerdiagnoser/lunga-och-lungsack/vardprogram/>

Multidisciplinär konferens (MDK)

Vid lungcancerutredning finns ofta ett flertal prover från bronkoskopi samt ev. ytterligare från transthorakal punktion, pleuraexsudat och extrathorakala metastaser. Det rör sig oftast om såväl histopatologiska som cytologiska prover. Lungan är också det vanligaste organet för metastaser, och fullständig klinisk/radiologisk/epidemiologisk/tumörhistorisk information finns inte alltid tillgänglig för patologen i den diagnostiska situationen (även om så

omfattande information som möjligt är önskvärt redan vid första remiss). Av detta skäl är det viktigt att en konsensusdiagnos baserad på allt tillgängligt material ställs i samband med MDK. Vid detta tillfälle kan även beslutas om eventuell ytterligare diagnostik beträffande tumörtyp, ursprung och molekylär prediktion är önskvärt.

XVII. Referenser

Klassifikationssystem

WHO Classification of Tumours Editorial Board; Borczuk AC, Cooper WA, Dacic S, et al (Eds). WHO classification of tumours, 5th edition, Thoracic Tumours. IARC Press, Lyon: 2021.

Yatabe Y, Dacic S, Borczuk AC, et al. Best practices recommendations for diagnostic immunohistochemistry in lung cancer. *J Thorac Oncol* 2019;14:377-407.

Rami-Porta R (Ed). Staging handbook in thoracic oncology, 2nd edition. Editorial Rx Press, North Fort Meyers (FL): 2016.

Travis WD, Asamura H, Bankier AA, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Proposals for Coding T Categories for Subsolid Nodules and Assessment of Tumor Size in Part-Solid Tumors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification of Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2016;11:1204-1223.

Edwards JG, Chansky K, Van Schil P, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Analysis of Resection Margin Status and Proposals for Residual Tumor Descriptors for Non-Small Cell Lung Cancer. *J Thorac Oncol*. 2020;15:344-359.

Internationella kvalitetsdokument

College of American Pathologists (CAP). Cancer protocols. <https://www.cap.org/protocols-and-guidelines/cancer-reporting-tools/cancer-protocol-templates>

Royal College of Pathologists (RCPATH). Datasets and tissue pathways. <https://www.rcpath.org/profession/guidelines/cancer-datasets-and-tissue-pathways.html>

Epidemiologi

Socialstyrelsen (SoS). Statistik om cancer. <https://www.socialstyrelsen.se/statistik-och-data/statistik/alla-statistikamnen/cancer/>

World Health Organization (WHO). The top 10 causes of death. <https://www.who.int/en/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death>

International Agency for Research on Cancer (IARC). Cancer fact sheets. <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>

Diagnostiska markörer

Ao MH, Zhang H, Sakowski L, et al. The utility of a novel triple marker (combination of TTF1, napsin A, and p40) in the subclassification of non-small cell lung cancer. *Hum Pathol* 2014;45:926-934.

Bishop JA, Sharma R, Illei PB. Napsin A and thyroid transcription factor-1 expression in carcinomas of the lung, breast, pancreas, colon, kidney, thyroid, and malignant mesothelioma. *Hum Pathol* 2010;41:20-25.

Bishop JA, Teruya-Feldstein J, Westra WH, et al. p40 (Δ Np63) is superior to p63 for the diagnosis of pulmonary squamous cell carcinoma. *Modern Pathology* 2012;25:405-415.

Chang YL, Lee YC, Liao WY, et al. The utility and limitation of thyroid transcription factor-1 protein in primary and metastatic pulmonary neoplasms. *Lung Cancer* 2004;44:149-157.

Gomez-Fernandez C, Mejias A, Walker G, et al. Immunohistochemical expression of estrogen receptor in adenocarcinomas of the lung: the antibody factor. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:137-141.

Gremel G, Bergman J, Djureinovic D, et al. A systematic analysis of commonly used antibodies in cancer diagnostics. *Histopathology* 2014;64:293-305.

Kadota K, Nitadori J, Rekhtman N, et al. Reevaluation and reclassification of resected lung carcinomas originally diagnosed as squamous cell carcinoma using immunohistochemical analysis. *Am J Surg Pathol* 2015;39:1170-1180.

Kaufmann O, Dietel M. Expression of thyroid transcription factor-1 in pulmonary and extrapulmonary small cell carcinomas and other neuroendocrine carcinomas of various primary sites. *Histopathology* 2000;36:415-420.

Kim MJ, Shin HC, Shin KC, et al. Best immunohistochemical panel in distinguishing adenocarcinoma from squamous cell carcinoma of lung: tissue microarray assay in resected lung cancer specimens. *Ann Diagn Pathol* 2013;17:85-90.

La Rosa S, Chiaravalli AM, Placidi C, et al. TTF1 expression in normal lung neuroendocrine cells and related tumors: immunohistochemical study comparing two different monoclonal antibodies. *Virchows Arch* 2010;457:497-507.

Laury AR, Perets R, Piao H, et al. A comprehensive analysis of PAX8 expression in human epithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2011;35:816-826.

Liu H, Shi J, Wilkerson ML, et al. Immunohistochemical evaluation of GATA3 expression in tumors and normal tissues: a useful immunomarker for breast and urothelial carcinomas. *Am J Clin Pathol* 2012;138:57-64.

Lyda MH, Weiss LM. Immunoreactivity for epithelial and neuroendocrine antibodies are useful in the differential diagnosis of lung carcinomas. *Hum Pathol* 2000;31:980-987.

Ma Y, Fan M, Dai L, et al. Expression of p63 and CK5/6 in early-stage lung squamous cell carcinoma is not only an early diagnostic indicator but also correlates with a good prognosis. *Thorac Cancer* 2015;6:288-295.

Masai K, Tsuta K, Kawago M, et al. Expression of squamous cell carcinoma markers and adenocarcinoma markers in primary pulmonary neuroendocrine carcinomas. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013;21:292-297.

Matoso A, Singh K, Jacob R, et al. Comparison of thyroid transcription factor-1 expression by 2 monoclonal antibodies in pulmonary and nonpulmonary primary tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2010;18:142-149.

Micke P, Botling J, Mattsson JSM, et al. Mucin staining is of limited value in addition to basic immunohistochemical analyses in the diagnostics of non-small cell lung cancer. *Sci Rep*. 2019;9:1319.

Miettinen M, McCue PA, Sarlomo-Rikala M, et al. GATA3: a multispecific but potentially useful marker in surgical pathology: a systematic analysis of 2500 epithelial and nonepithelial tumors. *Am J Surg Pathol* 2014;38:13-22.

Mukhopadhyay S, Dermawan JK, Lanigan CP, et al. Insulinoma-associated protein 1 (INSM1) is a sensitive and highly specific marker of neuroendocrine differentiation in primary lung neoplasms: an immunohistochemical study of 345 cases, including 292 whole-tissue sections. *Mod Pathol*. 2019;32:100-109.

Nagashio R, Ueda J, Ryuge S, et al. Diagnostic and prognostic significances of MUC5B and TTF-1 expressions in resected non-small cell lung cancer. *Sci Rep* 2015;5:8649.

Nicholson SA, Beasley MB, Brambilla E, et al. Small cell lung carcinoma (SCLC): a clinicopathologic study of 100 cases with surgical specimens. *Am J Surg Pathol* 2002;26:1184-1197.

Nonaka D. A study of Δ Np63 expression in lung non-small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2012;36:895-899.

Ordóñez NG. Value of thyroid transcription factor-1 immunostaining in distinguishing small cell lung carcinomas from other small cell carcinomas. *Am J Surg Pathol* 2000;24:1217-1223.

Pelosi G, Frassetto F, Pasini F, et al. Immunoreactivity for thyroid transcription factor-1 in stage I non-small cell carcinomas of the lung. *Am J Surg Pathol* 2001;25:363-372.

Pelosi G, Rossi G, Cavazza A, et al. Δ Np63 (p40) distribution inside lung cancer: a driver biomarker approach to tumor characterization. *Int J Surg Pathol* 2013;21:229-239.

Rekhtman N, Ang DC, Sima CS, et al. Immunohistochemical algorithm for differentiation of lung adenocarcinoma and squamous cell carcinoma based on large series of whole-tissue sections with validation in small specimens. *Mod Pathol* 2011;24:1348-1359.

Rooper LM, Sharma R, Li QK, et al. INSM1 demonstrates superior performance to the individual and combined use of synaptophysin, chromogranin and CD56 for diagnosing neuroendocrine tumors of the thoracic cavity. *Am J Surg Pathol*. 2017;41:1561-1569.

Staaf J, Tran L, Söderlund L, et al. Diagnostic Value of Insulinoma-Associated Protein 1 (INSM1) and Comparison With Established Neuroendocrine Markers in Pulmonary Cancers: A Comprehensive Study and Review of the Literature. *Arch Pathol Lab Med*. 2020;144:1075-1085.

Stenhouse G, Fyfe N, King G, et al. Thyroid transcription factor 1 in pulmonary adenocarcinoma. *J Clin Pathol* 2004;57:383-387.

Sturm N, Rossi G, Lantuejoul S, et al. Expression of thyroid transcription factor-1 in the spectrum of neuroendocrine cell lung proliferations with special interest in carcinoids. *Hum Pathol* 2002;33:175-182.

Tacha D, Yu C, Bremer R, et al. A 6-antibody panel for the classification of lung adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2012;20:201-207.

Tatsumori T, Tsuta K, Masai K, et al. p40 is the best marker for diagnosing pulmonary squamous cell carcinoma: comparison with p63, cytokeratin 5/6, desmocollin-3, and sox2. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2014;22:377-382.

Turner BM, Cagle PT, Sainz IM, et al. Napsin A, a new marker for lung adenocarcinoma, is complementary and more sensitive and specific than thyroid transcription factor 1 in the differential diagnosis of primary pulmonary carcinoma: evaluation of 1674 cases by tissue microarray. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136:163-171.

Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Comparison of three different TTF-1 clones in resected primary lung cancer and epithelial pulmonary metastases. *Am J Clin Pathol*. 2018;150:533-544.

Vidarsdottir H, Tran L, Nodin B, et al. Immunohistochemical profiles in primary lung cancers and epithelial pulmonary metastases. *Hum Pathol*. 2019;84:221-230.

Wang LJ, Greaves WO, Sabo E, et al. GCDFP-15 positive and TTF-1 negative primary lung neoplasms: a tissue microarray study of 381 primary lung tumors. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2009;17:505-511.

Warth A, Muley T, Herpel E, et al. Large-scale comparative analyses of immunomarkers for diagnostic subtyping of non-small-cell lung cancer biopsies. *Histopathology* 2012;61:1017-1025.

Whithaus K, Fukuoka J, Prihoda TJ, et al. Evaluation of napsin A, cytokeratin 5/6, p63, and thyroid transcription factor 1 in adenocarcinoma versus squamous cell carcinoma of the lung. *Arch Pathol Lab Med* 2012;136:155-162.

Yang M, Nonaka D. A study of immunohistochemical differential expression in pulmonary and mammary carcinomas. *Mod Pathol* 2010;23:654-661.

Ye J, Hameed O, Findeis-Hosey JJ, et al. Diagnostic utility of PAX8, TTF-1 and napsin A for discriminating metastatic carcinoma from primary adenocarcinoma of the lung. *Biotech Histochem* 2012;87:30-34.

Molekylära analyser och målriktad terapi

Kwak EL, Bang YJ, Camidge DR, et al. Anaplastic lymphoma kinase inhibition in non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med* 2010;363:1693-1703.

Lindeman NI, Cagle PT, Aisner DL, et al. Updated molecular testing guideline for the selection of lung cancer patients for treatment with targeted tyrosine kinase inhibitors: Guideline from the College of American Pathologists, the International Association for the Study of Lung Cancer, and the Association for Molecular Pathology. *J Thorac Oncol.* 2018;13:323-358.

My Cancer Genome. Non-small cell lung carcinoma.

<https://www.mycancergenome.org/content/disease/non-small-cell-lung-carcinoma/>

Rosell R, Moran T, Queralt C, et al; Spanish Lung Cancer Group. Screening for epidermal growth factor receptor mutations in lung cancer. *N Engl J Med* 2009;361:958-967.

Thunnissen E, Bubendorf L, Dietel M, et al. EML4-ALK testing in non-small cell carcinomas of the lung: a review with recommendations. *Virchows Arch* 2012;461:245-257.

Immunmodulerande terapi och PD-L1

Brunnström H, Johansson A, Westbom-Fremer S, et al. PD-L1 immunohistochemistry in clinical diagnostics of lung cancer: inter-pathologist variability is higher than assay variability. *Mod Pathol.* 2017;30:1411-1421.

Gosney JR, Boothman AM, Ratcliffe M, Kerr KM. Cytology for PD-L1 testing: A systematic review *Lung Cancer.* 2020;141:101-106.

Lantuejoul S, Damotte D, Hofman V, Adam J. Programmed death ligand 1 immunohistochemistry in non-small cell lung carcinoma. *J Thorac Dis.* 2019;11:S89-S101.

Lantuejoul S, Sound-Tsao M, Cooper WA, et al. PD-L1 Testing for Lung Cancer in 2019: Perspective From the IASLC Pathology Committee. *J Thorac Oncol.* 2020;15:499-519

Koomen BM, Badrising SK, van den Heuvel MM, Willems SM. Comparability of PD-L1 immunohistochemistry assays for non-small cell lung cancer: a systematic review. *Histopathology.* 2020;76:793-802.

Mansour MSI, Lindquist KE, Seidal T, et al. PD-L1 Testing in Cytological Non-Small Cell Lung Cancer Specimens: A Comparison with Biopsies and Review of the Literature. *Acta Cytol.* 2021;65:501-509.

Skov BG, Skov T. Paired comparison of PD-L1 expression on cytologic and histologic specimens from malignancies in the lung assessed with PD-L1 IHC 28-8pharmDx and PD-L1 IHC 22C3pharmDx. *Appl Immunohistochem Mol Morphol.* 2017;25:453-459.

Tsao MS, Kerr KM, Kockx M, et al. PD-L1 immunohistochemistry comparability study in real-life clinical samples: results of Blueprint Phase 2 Project. *J Thorac Oncol.* 2018;13:1302-1311.

Villaruz LC, Ancevski Hunter K, Kurland BF, et al. Comparison of PD-L1 immunohistochemistry assays and response to PD-1/L1 inhibitors in advanced non-small cell lung cancer in clinical practice. *Histopathology.* 2019;74:269-275.

Multipla tumörer

Detterbeck FC, Nicholson AG, Franklin WA, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Summary of Proposals for Revisions of the Classification of Lung Cancers with Multiple Pulmonary Sites of Involvement in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification. *J Thorac Oncol.* 2016;11:639-650.

Detterbeck FC, Franklin WA, Nicholson AG, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Background Data and Proposed Criteria to Distinguish Separate Primary Lung Cancers from Metastatic Foci in Patients with Two Lung Tumors in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification for Lung Cancer. *J Thorac Oncol.* 2016;11:651-665.

Detterbeck FC, Marom EM, Arenberg DA, et al. The IASLC Lung Cancer Staging Project: Background Data and Proposals for the Application of TNM Staging Rules to Lung Cancer Presenting as Multiple Nodules with Ground Glass or Lepidic Features or a Pneumonic Type of Involvement in the Forthcoming Eighth Edition of the TNM Classification. *J Thorac Oncol.* 2016;11:666-680.

Ericson-Lindquist K, Johansson A, Levéen P, et al. Targeted sequencing may facilitate differential diagnostics of pulmonary tumours: a case series. *Diagn Pathol.* 2017;12:31.

Nicholson AG, Torkko K, Viola P, et al. Interobserver Variation among Pathologists and Refinement of Criteria in Distinguishing Separate Primary Tumors from Intrapulmonary Metastases in Lung. *J Thorac Oncol.* 2018;13:205-217.

Cytologi

Alsharif M, Andrade RS, Groth SS, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial fine-needle aspiration: the University of Minnesota experience, with emphasis on usefulness, adequacy assessment, and diagnostic difficulties. *Am J Clin Pathol* 2008;130:434-443.

Cameron SE, Andrade RS, Pambuccian SE. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration cytology: a state of the art review. *Cytopathology* 2010;21:6-26.

Nayak A, Sugrue C, Koenig S, et al. Endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspirate (EBUS-TBNA): a proposal for on-site adequacy criteria. *Diagn Cytopathol* 2012;40:128-137.

Michael CW, Bedrossian CC. The implementation of liquid-based cytology for lung and pleural-based diseases. *Acta Cytol* 2014;58:563-573.

Rekhtman N, Brandt SM, Sigel CS, et al. Suitability of thoracic cytology for new therapeutic paradigms in non-small cell lung carcinoma: high accuracy of tumor subtyping and feasibility of EGFR and KRAS molecular testing. *J Thorac Oncol.* 2011;6:451-458.

Sigel CS, Moreira AL, Travis WD, et al. Subtyping of non-small cell lung carcinoma: a comparison of small biopsy and cytology specimens. *J Thorac Oncol* 2011;6:1849-1856.

Wagner DG, Russell DK, Benson JM, et al. Cellient™ automated cell block versus traditional cell block preparation: a comparison of morphologic features and immunohistochemical staining. *Diagn Cytopathol* 2011;39:730-736.

Jing X, Li QK, Bedrossian U, Michael CW. Morphologic and immunocytochemical performances of effusion cell blocks prepared using 3 different methods. *Am J Clin Pathol* 2013;139:177-182.

van Hemel BM, Suurmeijer AJ. Effective application of the methanol-based PreservCyt^(TM) fixative and the Cellient^(TM) automated cell block processor to diagnostic cytopathology, immunocytochemistry, and molecular biology. *Diagn Cytopathol* 2013;41:734-741.

Kruger AM, Stevens MW, Kerley KJ, Carter CD. Comparison of the Cellient^(TM) automated cell block system and agar cell block method. *Cytopathology* 2014;25:381-388.

Montgomery E, Gao C, de Luca J, et al. Validation of 31 of the most commonly used immunohistochemical antibodies in cytology prepared using the Cellient^(®) automated cellblock system. *Diagn Cytopathol* 2014;42:1024-1033.

Prendeville S, Brosnan T, Browne TJ, McCarthy J. Automated Cellient^(TM) cytoblocks: better, stronger, faster? *Cytopathology* 2014;25:372-380.

Gruchy JR, Barnes PJ, Dakin Haché KA. CytoLyt[®] fixation and decalcification pretreatments alter antigenicity in normal tissues compared with standard formalin fixation. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2015;23:297-302.

Neuroendokrina tumörer

Fasano M, Della Corte CM, et al. Pulmonary large-cell neuroendocrine carcinoma: from epidemiology to therapy. *J Thorac Oncol* 2015;10:1133-1141.

Igawa S, Watanabe R, Ito I, et al. Comparison of chemotherapy for unresectable pulmonary high-grade non-small cell neuroendocrine carcinoma and small-cell lung cancer. *Lung Cancer* 2010;68:438-445.

Rekhtman N. Neuroendocrine tumors of the lung: an update. *Arch Pathol Lab Med* 2010;134:1628-1638.

Rindi G, Klersy C, Inzani F, et al. Grading the neuroendocrine tumors of the lung: an evidence-based proposal. *Endocr Relat Cancer* 2014;21:1-16.

Travis WD. Update on small cell carcinoma and its differentiation from squamous cell carcinoma and other non-small cell carcinomas. *Mod Pathol* 2012;25 Suppl 1:S18-30.

HPV i lungtumörer

Bishop JA, Ogawa T, Chang X, et al. HPV analysis in distinguishing second primary tumors from lung metastases in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Am J Surg Pathol* 2012;36:142-148.

Chang SY, Keeney M, Law M, et al. Detection of human papillomavirus in non-small cell carcinoma of the lung. *Hum Pathol* 2015;46:1592-1597.

Galvan A, Noci S, Taverna F, et al. Testing of human papillomavirus in lung cancer and non-tumor lung tissue. *BMC Cancer* 2012;12:512.

Koshiol J, Rotunno M, Gillison ML, et al. Assessment of human papillomavirus in lung tumor tissue. *J Natl Cancer Inst* 2011;103:501-507.

Sagerup CM, Nymoer DA, Halvorsen AR, et al. Human papilloma virus detection and typing in 334 lung cancer patients. *Acta Oncol* 2014;53:952-957.

van Boerdonk RA, Daniels JM, Bloemena E, et al. High-risk human papillomavirus-positive lung cancer: molecular evidence for a pattern of pulmonary metastasis. *J Thorac Oncol* 2013;8:711-718.

Yanagawa N, Wang A, Kohler D, et al. Human papilloma virus genome is rare in North American non-small cell lung carcinoma patients. *Lung Cancer* 2013;79:215-220.

Övrigt

Ericson Lindquist K, Ciornei C, Westbom-Fremer S, et al. Difficulties in diagnostics of lung tumours in biopsies: an interpathologist concordance study evaluating the international diagnostic guidelines. *J Clin Pathol* 2022;75:302-309.

Ericson Lindquist K, Gudnaviciene I, Mylona N, et al. Real-world diagnostic accuracy and use of immunohistochemical markers in lung cancer diagnostics. *Biomolecules* 2021;11:1721.

Appendix 1. Kommentarer till diagnostik

Vanliga histologiska typer

Adenokarcinom:

Adenokarcinom i lunga uppvisar definitionsmässigt minst en av A) morfologi förenlig med adenokarcinom, såsom lepidiskt, acinärt, papillärt, mikropapillärt, kribriformt, fetalt eller mucinöst växtmönster, B) mucinproduktion, ≥ 5 inklusioner i varje av två högförstoringsfält/ 0.4 mm^2 , C) positiv immunhistokemisk markör, TTF-1, napsin A; $\geq 1\%$ positiva tumörceller. Vid solitt växtmönster med stöd från immun- eller mucinfärgning används på biopsi/cytologi termen NSCC sannolikt adenokarcinom.

För kombinerade tumörer gäller att om $\geq 10\%$ av vardera adenokarcinom och skivepitelcancer så klassas tumören som adenoskvamös. Motsvarande klassas tumören som pleomorf cancer om $\geq 10\%$ spolcellig eller jättecellscancer. Notera att säker diagnos avseende dessa kombinationstumörer endast kan ställas på resektat – vid biopsi/cytologi klassas cancer med sarkomatoida drag efter immunhistokemi i NSCC sannolikt adenokarcinom, NSCC sannolikt skivepitelcancer eller NSCC ospecificerad (se Appendix 3). Vid kombinerad tumör med småcellig cancer eller storcellig neuroendokrin cancer (oavsett andel av komponenterna) klassas tumören i stället som subtyp till dessa former, nämligen kombinerad småcellig cancer respektive kombinerad storcellig neuroendokrin cancer.

Vid morfologisk bild av adenokarcinom ingår utöver de nämnda differentialdiagnoserna adenoskvamös cancer, pleomorf cancer och kombinerad neuroendokrin cancer även cancer av spottkörteltyp, metastas av adenokarcinom från annat organ, bifasiskt synovialt sarkom och könszellstumör (körtellika ”pseudoglandulära” formationer kan även ses vid skivepitelcancer, mesoteliom och neuroendokrina tumörer).

Positiv TTF-1 och napsin A talar, förutom för adenokarcinom, även för ursprung i lunga, och kan därför vara av värde även vid tydlig morfologisk bild. Se Appendix 2 för differentialdiagnoser vid TTF-1- eller napsin A-positiv tumör.

Positiv TTF-1 klon 8G7G3/1 och/eller napsin A utesluter i princip positiv p40 (och oftast CK5). Vid positiv (fokal eller diffus, definierat som $< 10\%$ respektive $\geq 10\%$ av tumörcellerna) TTF-1 klon 8G7G3/1 och/eller napsin A med samtidig fokal p40 och/eller fokal CK5 rekommenderas att fallet klassas som adenokarcinom om den morfologiska bilden är icke-småcellig cancer av oklar typ. Undantag är om TTF-1/napsin A respektive p40/CK5 ses i olika cellpopulationer, varvid adenoskvamös cancer bör misstänkas (för säker diagnos av adenoskvamös cancer krävs emellertid resektat). Vid diffust positiv p40 eller CK5 med samtidig svag och/eller fokal positivitet med TTF-1 klon SPT24 (som flertalet patologavdelningar idag använder) eller klon SP141 är diagnosen dock i princip alltid skivepitelcancer. Notera att WHO (klassifikationen från 2021 och tilläggspubliceringen från 2019) rekommenderar och har skrivit sina riktlinjer utifrån klon 8G7G3/1 och att fall med positiv TTF-1 klon 8G7G3/1 bör betraktas som adenokarcinom oavsett p40/CK5 om den morfologiska bilden är icke-småcellig cancer av oklar typ. Studier från Sverige har visat att 10% är en bättre cutoff-nivå för positiv TTF-1 med klon SPT24 och SP141 (men även $> 10\%$ positivitet förekommer vid skivepitelcancer) och att klon SPT24 är förenat med fler feldiagnoser i praktisk diagnostik (se t.ex. under Övrigt i referenslistan). Fångade bronkiolära strukturer med basalceller (p40/CK5-positiva) kan förekomma och får inte misstolkas som tumörceller.

Vid lågt differentierad icke-småcellig cancer med bild suggestiv för skivepiteldifferentiering görs immunfärgning för att fastställa om skivepitelcancer (endast p40/CK5 positiv), adenoskvamös cancer (olika populationer p40/CK5 respektive TTF-1/napsin A positiv) eller pseudoskvamöst adenokarcinom (endast TTF-1/napsin A positiv) föreligger.

Adenokarcinom in situ definieras som lokaliserat ≤ 3 cm stort adenokarcinom med ren lepidisk växt utan tecken till invasion. Oftast är adenokarcinom in situ icke-mucinöst. Vid endast lepidiskt växtmönster utan invasion i biopsi bör man dock ange att invasion inte kan uteslutas eftersom ren in situ-växt är mycket ovanligt. (Differentialdiagnosen atypisk adenomatös hyperplasi, AAH, med kuboida lätt atypiska glest kontinuerliga epitelceller som följer alveolarsepta är sällan aktuell på biopsi/cytologi då AAH typiskt är en mycket liten lesion som är svår att ta prov från.)

Invasion definieras som annat växtmönster än lepidiskt, stroma med myofibroblaster med invasion, vaskulär eller pleural invasion samt spridning via luftrum (STAS). Minimalt invaderande adenokarcinom (MIA) definieras som ≤ 3 cm stort adenokarcinom med lepidiskt växtmönster med totalt ≤ 5 mm invasion samt ingen invasion i kärl/pleura, nekros eller spridning via luftrum (STAS).

För övriga invasiva adenokarcinom motsvarar subtyp det dominerande växtmönstret vid resektat (undantag 10-90% mucinös komponent klassas som kombinerat invasivt mucinöst adenokarcinom, med mucinöst definierat som bägarcells- eller cylindercellsmorfologi med rikligt intracytoplasmiskt mucin). Enligt WHO-klassifikationen rekommenderas att alla växtmönster redovisas i 5%-intervall, men sådan detaljerad redovisning påverkar inte handläggning i kliniken. Notera att även invasiva mucinösa adenokarcinom kan uppvisa de olika växtmönstren lepidiskt, acinär, papillär och mikropapillär, men man brukar inte ange detta (subtypen blir 'invasiv mucinös'). För invasiva mucinösa adenokarcinom (men inte mucinös MIA) räknas all tumör som invasiv vid mätning av storlek för T-stadium. Pneumonisk spridning (närliggande härdar fr.a. med lepidisk växt) är vanligt vid fr.a. invasiva mucinösa adenokarcinom, och detta räknas då som ett tumörfokus och inte metastas inom samma lob om det makroskopiskt ser ut att vara ett tumörområde.

För biopsi kan också anges vilket växtmönster man ser, men viktigast är att ange om icke-mucinöst eller mucinöst adenokarcinom.

Skivepitelcancer:

Skivepitelcancer uppvisar definitionsmässigt minst en av A) keratinisering, inkl. pärlbildning, B) intercellulära bryggor, C) positiv immunhistokemisk markör, p40 (alt. CK5, CK5/6) inte enbart fokalt (dvs $\geq 10\%$ infärgade tumörceller, men $\geq 50\%$ rekommenderas för biopsier i WHO-klassifikationen). Vid avsaknad av keratin eller bryggor men stöd från immunfärgning används på biopsi/cytologi termen NSCC sannolikt skivepitelcancer.

Se adenokarcinom ovan angående blandformer (adenoskvamös och pleomorf cancer samt kombinerad småcellig och storcellig neuroendokrin cancer) samt hur man resonerar vid samtidig positiv TTF-1/napsin A och uteslutande av pseudoskvamöst adenokarcinom etc. Fångat alveolarepitel förekommer relativt ofta och är positivt för TTF-1 och napsin A (även makrofager är napsin A-positiva) och får inte misstolkas som tumör.

Utifrån sensitivitet och specificitet är p40 den bästa markören för skivepitelcancer. CK5 och CK5/6 är inte riktigt lika bra i flera studier och får därför betraktas som andrahandsval (p63 ska inte användas i lungsammanhang). Se Appendix 2 för differentialdiagnoser vid p40- eller CK5-positiv tumör.

Vid tydlig keratinisering kan man avstå från bekräftande immunfärgning, fr.a. på resektat. Man bör dock vara liberal med immunfärgning, fr.a. på små material men även vid resektat. Keratinisering utesluter inte heller adenoskvamös cancer, pleomorf cancer, kombinerad neuroendokrin cancer, metastas av endometroid cancer med skvamös differentiering och NUT-karcinom. Apoptotiska celler kan misstas för unicellulär keratinisering, medan lamellär arkitektur och palissadering även kan ses vid annan histologisk typ, och tydliga intercellulära bryggor är ofta svårt att se. Vid icke-keratiniserande typ är solitt växande adenokarcinom, storcellig cancer, cancer av spottkörteltyp samt metastas av urotelial cancer, basaloid bröstcancer eller thymom viktigaste differentialdiagnoser, medan vid basaloid typ är neuroendokrina tumörer, lymfom, cancer av spottkörteltyp, lymfoepitelial cancer (som nu ingår i skivepitelcancergruppen), NUT-karcinom och SMARCA4-deficient tumör är viktigaste differentialdiagnoser. Metastas av hudadnextumör och basaliom samt olfaktoriskt neuroblastom är andra sällsynta differentialdiagnoser.

Storcellig cancer:

Storcellig cancer uppvisar definitionsmässigt inga tecken till adenokarcinom, skivepitelcancer, småcellig cancer eller andra specifika drag. Fokal (<10%) positivitet för skivepitelmarkör (p40, CK5) accepteras, men diffus ($\geq 10\%$) positivitet för dessa eller fokal eller diffus positivitet för TTF-1 eller napsin A utesluter diagnosen storcellig cancer, liksom ≥ 5 mucininklusioner i varje av två högförstoringsfält/0.4 mm². På biopsi/cytologi används inte diagnosen storcellig cancer utan i stället NSCC ospecificerad.

Småcellig cancer:

Småcellig cancer uppvisar definitionsmässigt relativt små celler med sparsam cytoplasma, fingranulärt kromatin och inga eller diskreta nukleoler. Cellerna är runda, ovala eller spolformade och ligger tätt med kärnor som formar sig efter varandra ('nuclear molding'). Rikligt med mitoser (definitionsomässigt >10 per 2 mm²) ska ses. Nekroser är vanligt.

Diagnosen kombinerad småcellig cancer gäller om det finns tydlig komponent av småcellig cancer med $\geq 10\%$ storcellig neuroendokrin cancer eller storcellig cancer, eller med annan histologisk typ oavsett andel (adenokarcinom, skivepitelcancer etc.).

Småcellig cancer är oftast positiv för neuroendokrina markörer, men det är inte obligat för diagnos. Cytokeratinfärgning ger som regel en punkt- eller skärformad cytoplasmfärgning. Viktiga differentialdiagnoser är skivepitelcancer, lymfom, vissa sarkom och storcellig neuroendokrin cancer. Den sistnämnda går inte att skilja från småcellig cancer genom immunfärgning (se vidare nedan).

Vid tångbiopsi ses ofta de typiska krossartefakterna. Vid kryobiopsi där cellstrukturen är mer bevarad och fr.a. vid resektat där kärnorna ofta får ett mer luckert utseende efter fixering kan diagnosen vara mindre självklar.

Storcellig neuroendokrin cancer:

Storcellig neuroendokrin cancer uppvisar definitionsmässigt neuroendokrin differentiering (organoida nästen, rosetter, trabekulär växt eller perifer palissadering) utan att fylla kriterierna

för småcellig cancer och minst en positiv immunhistokemisk neuroendokrin markör (av CD56, synaptofysin, chromogranin A, INSM1). Rikligt med mitoser (definitionsmissigt >10 per 2 mm^2) ska ses. Nekroser är vanligt. Se småcellig cancer ovan angående blandformer.

Skillnaden mot småcellig cancer är att storcellig neuroendokrin cancer har större celler och/eller kärnor med vesikulärt eller grovt kromatin (men fint kromatin är relativt vanligt) och/eller förekomst av tydliga nukleoler. Ki67-index och mitosantal uppvisar stort överlapp mellan diagnoserna och ger oftast ingen direkt vägledning. Man kan ha nytta av en bred cytokeratinfärgning för att visualisera cytoplasmamängden.

För att skilja storcellig neuroendokrin cancer och småcellig cancer är sannolikt kärn-/cytoplasma-kvot och förekomst av nukleoler bäst, men även cellstorlek, cytoplasmamängd och kromatinteckning beaktas. Studier visar dock på likartad prognos och behandlingssvar vid de båda tumörformerna, varför uppdelningen inte bedöms som särskilt biologiskt relevant (i praktiken utförs dock normalt behandlingsprediktiv molekylärpatologisk analys vid bild av storcellig neuroendokrin cancer på biopsi/cytologi, och vid bild av småcellig cancer ges normalt profylaktisk hjärnbestrålning, varför det finns en viss skillnad i handläggning).

Karcinoid:

Karcinoider utgör tillsammans med småcellig cancer och storcellig neuroendokrin cancer gruppen neuroendokrina tumörer, men är av låg (typisk karcinoid) eller medelhög grad (atypisk karcinoid). Tumörerna är monomorfa och har neuroendokrint växtmönster (se ovan) och tillhörande immunhistokemisk profil. Spolcelligt inslag är inte ovanligt, speciellt vid perifera tumörer, och kan vid tekniska artefakter försvåra den morfologiska bedömningen. Typiska karcinoider uppvisar definitionsmissigt <2 mitoser per 2 mm^2 och inga nekroser, medan atypiska karcinoider har 2-10 mitoser per 2 mm^2 och/eller nekroser. Att använda proliferationsindex vid Ki67-färgning är ett sätt att dela upp låg/medel/höggradiga neuroendokrina tumör i GI-trakten, men definierar inte typisk/atypisk karcinoid i lunga. Det finns idag ingen evidens för att Ki67 skulle ge en bättre gradering av lungkarcinoider, men däremot är Ki67 till stor nytta för att skilja karcinoider och höggradiga neuroendokrina tumörer i de fall morfologin är oklar. I senaste WHO-klassifikation diskuteras dock om Ki67 med 5% som tillämplad cutoff kan vara lämpligt för atypisk vs. typisk karcinoid (men konsensus för detta finns inte, så tillsvärdare gäller definition efter mitoser/nekros). Likaså rekommenderas i WHO-klassifikationen att man rapporterar Ki67-index $>30\%$ vid karcinoid (vilket motsvarande inte innebär storcellig neuroendokrin cancer om övriga kriterier passar med karcinoid).

Rationell immunpanel enligt dagens kunskap

Vid rikligt med tumörvävnad (fr.a. vid resektat) är det materialmissigt oproblemiskt att utföra en omfattande immunhistokemisk/histokemisk analys för att så långt det går avgöra histologisk typ och ursprung. Vid små material är det en större utmaning att välja optimal panel.

Enligt WHO-klassifikationen och tidigare tilläggspublicering rekommenderas vid tydlig morfologisk bild av skivepitelcancer eller adenokarcinom inte något tillägg av immunhistokemisk/histokemisk färgning. Om oklar bild av icke-småcellig cancer rekommenderas en minimal panel med en markör för skivepitelcancer (i första hand p40) och en markör adenokarcinom (i första hand TTF-1, alt. napsin A) plus ev. mucinfärgning. Om samtliga är negativa rekommenderas kompletterande färgning för att bekräfta karcinom (se nedan). Neuroendokrina markörer rekommenderas om neuroendokrin morfologi.

Med denna strategi kommer man att kunna subtypa de flesta fall. Men samtidigt kommer utredning av ursprung vid morfologiskt adenokarcinom samt NSCC ospecificerad (då TTF-1 inte görs resp. är negativ) att i princip helt ligga på utredande kliniker med stöd av radiologi mm. Det blir sålunda inte primärt patologens uppgift ta ställning till metastas eller primär lungcancer till förmån för molekylärpatologisk analys. Från WHO-gruppen förespråkas i stället ett ökat multidisciplinärt samarbete där i princip samtliga patienter tas upp vid konferens.

I Sverige finns på många ställen en tradition av att patologen tar större ansvar att på eget initiativ utreda tumörursprung och själv beställa rimliga tilläggsanalyser utifrån morfologisk bild, historik och epidemiologisk situation utöver direkt frågeställning som utgår från anamnestisk, klinisk och radiologisk misstanke mm. Lokal förankring rekommenderas om vilken strategi som ska användas för att inte missförstånd ska uppstå, och att färga för åtminstone TTF-1 (eller napsin A) även vid tydlig morfologisk bild av adenokarcinom kan vara att föredra eftersom positiv färgning då talar starkt för ursprung i lunga. I praktiken finns dock påtaglig risk att onödigt stora immunpaneler utförs för att leta osannolika differentialdiagnoser, vilket både slösar tumörmaterial och ökar belastningen på immunlab. Vidare måste beaktas att ingen antikropp har perfekt sensitivitet eller specificitet.

Ett exempel på effektiv och vävnadsbesparande minipanel vid lågt differentierad icke-småcellig cancer där endast två-tre snitt används är immunhistokemiska dubbelfärgningar med p40, TTF-1, napsin A och ytterligare en cytoplasmatisk färgning (förslagsvis CK7, CK5 eller möjligen en neuroendokrin markör) samt ev. mucinfärgning (PAS-distas eller AB-PAS). Neuroendokrina markörer samt ev. Ki67 tillkommer om neuroendokrin morfologi. Se även Appendix 7.

Utöver dessa kan för riktad differentialdiagnostik t.ex. användas CK7 samt CDX2 eller ev. CK20 om misstanke om metastas av kolorektalcancer, GATA3 och ev. ER, PGR och SOX10 om bröstcancer, PAX8, WT1, och ev. ER, PGR, p53 och p16 om ovarialcancer, PAX8, CK7 och ev. RCC och CD10 om njurcancer, GATA3, uroplakin II, CK7, CK20, p40 och ev. CK5 om urotelial cancer, CK7, CK20 och CDX2 om övre gastrointestinal cancer (ventrikel- och pankreascancer är ofta positiva i både CK7 och CK20, gallvägscancer oftare bara CK7-positiva, men även positiv CK19), HepPar1, Glyp3 och ev. Arginase-1 om levercellscancer, NKX3.1, PSA och/eller P501S (prostein) om prostatacancer, bred cytokeratin om icke-epitelial tumör i kombination med S100, SOX10, HMB45 och MelanA om melanom, CD45 och/eller CD3 och CD20 om lymfom mm. Nära samarbete med patologer inriktade på andra områden såsom mjukdels- och hematopatologi etc. rekommenderas för val av bästa immunhistokemiska färgningar i dessa fall.

I praktiken bör epitelialt ursprung bekräftas för tumörer med oklar morfologisk bild och negativa markörer för adenokarcinom och skivepitelcancer med t.ex. CK7, CKAE1/3, EpCAM (men markörerna fr.a. CKAE1/3 kan förekomma i icke-epiteliala tumörer). Om sparsamt material bör som regel molekylärpatologisk analys prioriteras framför omfattande immunpaneler. Tidigare maligna sjukdomar, radiologiska fynd och klinisk misstanke ska framgå av remissen, annars är kontakt med utredande läkare ofta lämpligt i dessa fall för vägledning angående riktade immunhistokemiska färgningar. Diagnostiserande patolog ska också ta del av provtagningshistoriken för patienten.

Appendix 2. Immunhistokemi

Andel positiva fall	p40	CK5, CK5/6	TTF-1 klon 8G7G3/1	TTF-1 klon SPT24	Napsin A	CK7	CK20	CDX2	Synapto	ChromA	CD56	INSM1	ER	PGR, MAGLO, GCDFP-15	GATA3
Adenokarcinom	0-3%	0-13%	64-96%	72-97%	77-94%	96-100%	2-10%	2-9%	0-26%	0-9%	0-13%	0-7%	1-27%	0-5%	0-8%
Skivepitelcancer	76-100%	53-95%	0-6%	2-19%	0-9%	21-42%	0-14%	0-8%	0-5%	0-2%	0-16%	0-4%	0-3%	0%	0-12%
Storcellig cancer	0%	0%	0%	0%	0%	pos	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg	neg
Småcellig cancer	0%	0-1%	53-96%	84-86%	0%	5-25%	4%	neg	52-100%	4-83%	63-100%	75-100%	neg	neg	0%
Storcellig neuroendokrin cancer	0%	0-2%	23-61%	47-78%	0%	56%	neg	neg	55-88%	42-85%	61-94%	42-91%	neg	neg	0%
Karcinoid	0%	0%	0-50%	24-61%	0%	16%	neg	neg	94-100%	93-100%	83-100%	79-100%	neg	neg	0%
Bröstcancer	0%	3%	0-1%	0-2%	0-3%	88%	3%	0%	≤5%	≤5%	≤5%	neg	67-80%	23-57%	65-94%
Kolorektalcancer	0%	0%	0-3%	2-7%	0-2%	2%	88%	92%	≤5%	≤5%	≤5%	neg	0%	0%	0-1%

Kommentarer:

Sifforna anger i första hand primär lungcancer och kan skilja för metastaser av lungcancer i andra organ.

Värdena för vissa diagnoser/antikroppar baseras på ett relativt begränsat antal undersökta fall (pos/neg har använts när mycket begränsade data finns).

Enstaka studier med extrema värden har uteslutits i sammanställningen.

Försök till korrektion för variation i preanalytiska (fixering etc.), analytiska (färgningsprotokoll etc.) och postanalytiska (vald cutoff för positivitet etc.) har inte gjorts.

Enligt WHO-klassifikationen är diffust positiv p40/CK5 ($\geq 10\%$) eller positiv TTF-1/napsin A ($\geq 1\%$) inte förenligt med diagnosen storcellig cancer (nya studier med denna definition saknas, varför övriga data är osäkra).

TTF-1 är även positiv i thyreoideacancer, en del fall av höggradiga neuroendokrina tumörer (främst småcellig cancer) i andra organ samt enstaka fall av gynekologisk cancer (SPT24 även i ovanliga fall av övre GI-cancer, bröstcancer, germinalcellstumör, lymfom mm); napsin A är även

positiv i njurcancer och klarcellig cancer av annat ursprung; CK5 är även positiv i mesoteliom, vissa spottkörteltumörer, thymustumörer, en del fall av urotelial cancer och vissa gyntumörer (de fyra sistnämnda är normalt även p40-positiva), CK5-positiv bröstcancer är vanligen ”trippelnegativ” och p40-negativ; GATA3 är förutom i bröstcancer även positiv i urotelial cancer, en del mesoteliom och vissa andra tumörer som t.ex. paragangliom (fler studier behövs); PAX8 är positiv i adenokarcinom från ovarium, endometrium, cervix, njure och thyreoidea samt en del thymustumörer (fr.a. polyklonal PAX8).

Appendix 3. Tumörklassifikation enligt WHO 2021

Nomenklatur för invasiva epiteliala lungtumörer inkl. skillnader i terminologi för resektat resp. små material.

RESEKTAT	M-kod SNOMED	BIOPSI/CYTOLOGI
Histologisk typ/subtyp		Histologisk typ/subtyp
Adenokarcinom	M81403	Adenokarcinom
Adenokarcinom in situ	M81402	(Ingen motsvarighet/lepidiskt växtmönster)
Minimalt invaderande, icke-mucinöst	M82563	(Ingen motsvarighet/lepidiskt växtmönster)
Minimalt invaderande, mucinöst	M82573	(Ingen motsvarighet/mucinöst lepidiskt växtmönster)
Lepidiskt	M82503	Lepidiskt växtmönster
Acinärt	M85513	Acinärt växtmönster
Papillärt	M82603	Papillärt växtmönster
Mikropapillärt	M82653	Mikropapillärt växtmönster
Solitt	M82303	Solitt växtmönster
Invasivt mucinöst (inkl. kombinerat)	M82533 (komb. M82543)	Invasivt mucinöst ('mucinöst lepidiskt' om ej synlig invasion)
Kolloitt	M84803	Kolloitt växtmönster
Fetalt	M83333	Fetalt växtmönster
Enterisk typ	M81443	Enteriskt växtmönster
(Ingen motsvarighet)	M81403	NSCC sannolikt adenokarcinom
Skivepitelcancer	M80703	Skivepitelcancer
Keratiniserande	M80713	(Används normalt inte)
Icke-keratiniserande	M80723	(Används normalt inte)
Basaloid	M80833	(Används normalt inte)
Lymfoepitelial cancer	M80823	Lymfoepitelial cancer
(Ingen motsvarighet)	M80703	NSCC sannolikt skivepitelcancer
Neuroendokrina tumörer		Neuroendokrina tumörer
Småcellig cancer (inkl. kombinerad)	M80413 (komb. M80453)	Småcellig cancer (inkl. kombinerad)
Storcellig neuroendokrin cancer (inkl. kombinerad)	M80133	NSCC sannolikt storcellig neuroendokrin cancer (inkl. kombinerad)
Karcinoid, atypisk grad 2	M82493	(Används normalt inte)
Karcinoid, typisk grad 1	M82403	(Används normalt inte)
(Används sällan, fr.a. om resektat av metastas)	M82403	Karcinoid ospecificerad
Storcellig cancer	M80123	NSCC ospecificerad
Adenoskvamös cancer	M85603	NSCC möjligen adenoskvamös cancer
Sarkomatoida tumörer		Sarkomatoida tumörer
Pleomorf cancer	M80223	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Spolcellig cancer	M80323	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Jättecellscancer	M80313	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Carcinosarkom	M89803	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Pulmonellt blastom	M89723	NSCC med spolceller/jätteceller/mesenkymala strukturer etc. (se nedan)
Cancer av spottkörteltyp		Cancer av spottkörteltyp
Mukoepidermoid cancer	M84303	Mukoepidermoid cancer
Adenoidcystisk cancer	M82003	Adenoidcystisk cancer
Epitelial-myoepitelial cancer	M85623	Epitelial-myoepitelial cancer
Myoepitelial cancer	M89823	Myoepitelial cancer

Hyaliniserande klarcellig cancer	M83103	Hyaliniserande klarcellig cancer
<i>Övriga tumörer</i>		<i>Övriga tumörer</i>
NUT-karcinom	M80233	NUT-karcinom
Thorakal SMARCA4-deficient odifferentierad tumör	M80443	Thorakal SMARCA4-deficient odifferentierad tumör

NSCC = icke-småcellig cancer

Kommentarer:

Listan är inte komplett, och för övriga diagnoser och koder hänvisas till aktuell WHO-klassifikation.

Adenokarcinom med lepidiskt, acinärt, papillärt, mikropapillärt eller solitt växtmönster avser icke-mucinöst adenokarcinom (det predominerande växtmönstret används för subtypning, undantag om tumören klassas som minimalt invaderande). De specifika M-koderna för adenokarcinom med olika växtmönster gäller fr.a. resektat.

För biopsi/cytologi definieras icke-småcellig cancer (NSCC) sannolikt adenokarcinom som NSCC utan tydlig morfologi med positiv markör för adenokarcinom (TTF-1, napsin A eller mucinfärgning). NSCC sannolikt skivepitelcancer definieras som NSCC utan tydlig morfologi med positiv markör för skivepitelcancer (p40, CK5 eller CK5/6). NSCC ospecificerad används för motsvarande fall där markörer för adenokarcinom och skivepitelcancer är negativa eller inte kunnat utföras pga sparsamt material.

För biopsi/cytologi kan sarkomatoida drag såsom grav pleomorfism, spol- eller jätteceller eller mesenkymala strukturer som brosk etc. anges om dessa finns. Fallet klassas emellertid efter positiv markör för eller morfologisk förekomst av adenokarcinom- eller skivepiteldifferentiering enligt ovan (d.v.s. NSCC sannolikt adenokarcinom/sannolikt skivepitelcancer/ospecificerad om ej tydlig morfologi).

Termen 'icke-skivepitelcancer' kan vara användbar i kliniska sammanhang men rekommenderas inte i utlåtanden inom patologin.

Appendix 4. Stadiindelning enligt TNM8

T1	Tumör ≤ 3 cm i största mått, omgiven av lunga eller visceral pleura och utan inväxt i huvudbronk
T1a(mi)	Minimalt invaderande adenokarcinom
T1a	≤ 1 cm
T1b	>1 men ≤ 2 cm
T1c	>2 men ≤ 3 cm
T2	Tumör >3 men ≤ 5 cm i största mått och/eller någon av följande egenskaper: - växt i huvudbronk men utan växt i carina-området - växt i visceral pleura (förbi/genom elastica) inkl. direktöverväxt på annan lob - atelektas eller obstruktiv pneumoni p.g.a. tumör från hilusområdet och distalt i delar av eller hela lungan
T2a	>3 men ≤ 4 cm
T2b	>4 men ≤ 5 cm
T3	Tumör >5 cm men ≤ 7 cm i största mått och/eller någon av följande egenskaper: - växt i thoraxvägg (inkl. revben och sulcus superior), n phrenicus eller parietala perikardiet - separat tumörnodulus (metastas) i samma lob som primärtumören (se avsnitt X. Analyser ovan för kommentar)
T4	Tumör >7 cm i största mått och/eller någon av följande egenskaper: - växt i diafragma, mediastinum, hjärta inkl. visceral perikardiet, större kärl (aorta, vv. cavae, a pulmonalis, intraperikardiala delar av pulmonararterer och vener, plexus brachialis, v subclavia), trakea, n recurrens, esofagus, kotkropp eller carina - separat tumörnodulus (metastas) i annan ipsilateral lob än primärtumören (se avsnitt X. Analyser ovan för kommentar)
N1	Metastas i ipsilateral station 10-14 lgl eller intrapulmonell lgl inkl. per continuitatum (direktöverväxt)
N2	Metastas i ipsilateral station 2-9 lgl
N3	Metastas i skalenus eller supraklavikulär station 1 lgl eller kontralateral station 2-14 lgl
M1a	Metastas i kontralateral lunga, metastas till pleura (som involverar parietala pleura) eller perikard, eller malignt exsudat i pleura eller perikard
M1b	En extrathorakal metastas (inkl. lgl som inte omfattas av N)
M1c	Fler än en extrathorakal metastas

Notera att enligt rekommendation avser tumörstorlek största mått av invasiv del utom för invasiva mucinösa adenokarcinom

Appendix 5. Lymfkörtelstationer enligt IASLC

Supraklavikulära zonen	1. Nedre cervikala, supraklavikulära och övre sternala lymfkörtlar
Övre zonen	2. Övre paratrakeala lymfkörtlar
	3. Prevasikulära och retrotrakeala lymfkörtlar
	4. Nedre paratrakeala lymfkörtlar
Aortopulmonära zonen	5. Subaortala lymfkörtlar (aortopulmonella fönstret)
	6. Para-aortala lymfkörtlar (aorta ascendens el. phrenicus)
Subcarinala zonen	7. Subcarinala lymfkörtlar
Nedre zonen	8. Paraesofagala lymfkörtlar (under carina)
	9. Pulmonära ligament lymfkörtlar
Hilära/interlobära zonen	10. Hilära lymfkörtlar
	11. Interlobära lymfkörtlar
Perifera zonen	12. Lobära lymfkörtlar
	13. Segmentella lymfkörtlar
	14. Subsegmentella lymfkörtlar

Appendix 6. Isolated tumour cells (ITC) enligt TNM/IASLC

Beteckning	Typ
pN0	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, ingen undersökning avseende ITC
pN0(i-)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, negativ morfologisk undersökning för ITC
pN0(i+)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, positiv morfologisk undersökning för ITC
pN0(mol-)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, negativ icke-morfologisk undersökning för ITC
pN0(mol+)	Ingen histologiskt påvisad regional lymfkörtelmetastas, positiv icke-morfologisk undersökning för ITC

Kommentarer:

ITC definieras som enskilda tumörceller eller kluster av tumörceller ≤ 0.2 mm i största mått. Dessa påverkar inte tumörstadiet.

Morfologisk undersökning innefattar konventionell och immunhistokemisk färgning, icke-morfologisk PCR etc.

Tillägg (sn) efter beteckningen specificerar sentinel node.

M i stället för N i beteckningen används för distansmetastaser (i övrigt samma förfarande).

Appendix 7. Utredningsalgoritm biopsi/cytologi

Morfologi	Diagnos/diagnosförslag	Immunhistokemi	Prediktiv analys
Neuroendokrin morfologi, små celler, små/inga nukleoler, sparsam cytoplasma	Småcellig cancer	CK, NE-markörer, TTF-1, ev. p40, ev. Ki67, ev. CD45	-
Neuroendokrin morfologi, stora celler, måttlig till rikligt cytoplasma o/e tydliga nukleoler	Icke-småcellig cancer sannolikt storcellig neuroendokrin cancer	CK, NE-markörer, TTF-1, p40, ev. napsin A, ev. Ki67, ev. mucinfärgning	Direkt test för mutationer/fusioner och PD-L1
Neuroendokrin morfologi, monomorf bild med begränsad atypi, få/inga mitoser eller nekroser	Karcinoid	CK, NE-markörer, Ki67, ev. TTF-1	-
Lepidisk, papillär, mikropapillär o/e acinär arkitektur, skummig/vakuoliserad cytoplasma, 3D-formationer, fint kromatin med typiskt tydliga nukleoler	Adenokarcinom	Ev. TTF-1 (om mucinös tillägg CK7, CDX2, CK20, ev. napsin A)	Direkt test för mutationer/fusioner och PD-L1
Keratinisering, keratinpärlor o/e intercellulära bryggor	Skivepitelcancer	Ev. p40	Direkt test för mutationer/fusioner och PD-L1
Icke-småcellig cancer utan tydliga drag av skivepitelcancer eller adenokarcinom	Icke-småcellig cancer oklar typ	TTF-1, p40, ev. napsin A, ev. mucinfärgning	Direkt test för mutationer/fusioner och PD-L1
Specifika morfologiska drag eller klinisk/radiologisk/anamnestisk bild talar för metastas	Icke-småcellig cancer/adenokarcinom med misstanke om metastas till lunga	TTF-1, p40 (om inte tydligt adenokarcinom), CK7, ev. mucinfärgning, riktad panel utifrån misstanke om typ/ursprung	Om ändå lungcancer så sedan test för mutationer/fusioner och PD-L1

Kommentarer:

Immunhistokemi anger förslag på panel (inkl. histokemiska färgningar), se även text i dokumentet för vidare diskussion kring val av panel.

Med direkt prediktiv analys avses att samtliga analyser beställs i samband med att de diagnostiska immunfärgningarna beställs.